




# GUIDE DE RELECTURE DES COMPTES RENDUS D'EXPERTISE DE NORMES






## 1. Guide général

La présence des informations ci-dessous doit être vérifiée pour toutes les normes :

- Identification du laboratoire :
  - Nom du laboratoire d'analyse.
  - Date du protocole de la norme utilisé correspondant à la date de celui en vigueur.

- Identification de l'échantillon :
  - Nom du fabricant ou du fournisseur du produit.
  - Produit testé identique au produit commercialisé.
    Si le nom du produit testé et celui du produit commercialisé sont différents, mais que leurs compositions sont strictement identiques, le CR de norme peut être retenue sous réserve d'une attestation du fournisseur certifiant que les deux produits sont les mêmes. Par contre, si leurs noms sont identiques, mais qu'il existe une différence de composition, le CR de norme est refusé.
  - Numéro et date d'expiration (le cas échéant) du lot
  - Date de livraison
  - Conditions de stockage
  - Aspect du produit
  - Substance(s) active(s) et sa/leur concentration (facultatif)
  - Diluant du produit recommandé par le fabricant

- Concentration d'essai max : 80%.
  Pour les produits prêts à l'emploi n'entraînant pas la réduction requise avec la méthode habituelle, une méthode modifiée peut être employée. Elle permet d'obtenir une concentration de produit de 97 %.

- Validation de l'essai :
  Vérifier que la concentration testée dans la vérification de la méthodologie et de la validation de la méthode soit précisée, qu'elle correspond à la concentration maximale testée dans l'essai proprement dit (une concentration supérieure à la concentration, maximale testée est tolérée), que les essais sont réalisés le même jour que l'essai proprement dit et qu'il existe une conclusion validant la neutralisation.
  - Pour les normes utilisant une *méthode par dilution-neutralisation* : neutralisant précisé, existence d'un test préliminaire avec tableaux des résultats, dont la validation du neutralisant, et conclusion.
  - Pour les normes utilisant une *méthode par filtration sur membrane* : mode opératoire détaillé et résultats des tests préliminaires avec conclusion validant la méthode (tests préliminaires réalisés le même jour que l'essai proprement dit). Liquide de rinçage précisé.

  *NB : Les résultats des essais, pour lesquels la méthode de neutralisation n'est pas validée à la concentration la plus élevée mais est validée à la concentration active, sont acceptés.*

- Conditions de l'essai :
  - Date de l'essai.
  - Température, temps de contact, … (Cf. Grilles spécifiques).
  - Identification des micro-organismes utilisés.
  - Température d'incubation des souches
  - Aspect de la dilution : L'apparition d'un précipité ou d'un floculat dans le mélange d'essai au cours du mode opératoire est signalée dans le champ en texte libre en regard du libellé de la norme, car le dénombrement des microorganismes est difficile et non fiable dans ce contexte.





- Résultats de l'essai :
  - Présence des tableaux des résultats de l'essai proprement dit.
  - Chaque fois qu'un nombre d'unités formant des colonies est censé être compris entre une valeur seuil minimale et une valeur seuil maximale, les essais effectués sur un nombre d'UFC supérieur à la valeur seuil maximale peuvent être pris en considération.
  - Lors de la répétition recommandée des essais, seule la moyenne des résultats doit montrer une réduction supérieure au seuil fixé dans la norme (obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne). Par conséquent, à une même concentration, un produit testé plusieurs fois peut être actif et inactif ; le produit sera malgré tout considéré comme microbicide à cette concentration, si la moyenne des résultats des essais montre une réduction supérieure au seuil fixé dans la norme.
- Conclusion :
  Les résultats d'un essai selon un protocole de norme NF EN d'activité antimicrobienne ne sont pris en considération que si l'activité du produit est validée sur l'ensemble des souches prévues être testées dans le protocole (sauf pour les normes de fongicidie et mycobactéricidie).
  La dilution efficace à noter dans ProdHyBase® est celle qui figure dans la conclusion du procès verbal (que celle-ci corresponde à la première ou à la deuxième concentration active) ou à défaut la première dilution active du tableau des résultats d'essai.
  Lorsqu'il s'agit d'une norme pour laquelle les conditions de température ou de temps de contact peuvent varier, indiquer d'abord les résultats qui figurent dans la conclusion. En plus, si ceux-ci ne rendent pas compte de l'activité à la dilution d'emploi (ex. concentration dans la conclusion > à celle préconisée dans le mode d'emploi) mais que d'après le PV de norme, une activité a pu être obtenue avec la concentration d'emploi, signaler également cette activité.
- Lieu, date de l'essai et signature identifiée.

## 2. Guides spécifiques à chaque norme

### 1-1 NORMES DE BASE

**NF EN 1040 / NF T 72-152** (Avril 2006)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide de base des antiseptiques et des désinfectants chimiques. Méthode d'essai et prescriptions (phase 1).

- **Température** de l'essai :
  - obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - additionnelles : 4°C, 10°C et 40°C (écart admis pour chaque température +/- 1°C).

- **Temps de contact** de l'essai :
  - obligatoire : 5 min ± 10 s.
  - additionnels : 1 min +/- 5 s, 15 min, 30 min ou 60 min +/- 10 s.

  Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 5 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.
  ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 5 min.
  Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

- **Souches testées** :
  - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442
    CIP 103 467
    DSM 939
    NCIMB 10421
  - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
    CIP 4.83
    DSM 799
    NCTC 10788
    NCIMB 9518

- **Température d'incubation** des souches testées : 36°C +/- 1°C.

- **Prise d'essai** pour les produits solides au moins 1 g +/- 10 mg.

- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).

- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et pas d'apparition d'un précipité ou d'un floculat signalé au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et non fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 1040 20°C – 15 min – 2 % (floculat).

- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active (≥ 5 lg) et une concentration inactive (< 5 lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé.

lg ou $\log_{10}$

- **Neutralisation** : contrôlée le même jour que l'essai proprement dit, pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée (une concentration supérieure à la concentration la plus élevée est tolérée).

  - Témoin A (validation des conditions expérimentales choisies) : non obligatoire pour un essai à 20°C, temps de contact quelconque mais inférieur ou égal à 60 min sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

  - Si neutralisant utilisé par le laboratoire non valide : un deuxième neutralisant devrait être essayé avant d'envisager un essai par filtration sur membrane. Toutefois, ProdHyBase® tolère les essais par filtration sur membrane même si le choix de l'utilisation de cette méthode n'est pas justifié sur le compte rendu.

- **Répétition recommandée de l'essai** (6 applications) avec possibilité de limiter la répétition à l'organisme d'essai limitant (organisme le moins sensible) (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 5 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne). Par conséquent, un produit testé plusieurs fois à une même concentration peut être actif et inactif ; le produit sera considéré malgré tout comme bactéricide à cette concentration, si la moyenne des résultats des essais montre une réduction supérieure à 5 lg. (Note : Facultatif et économiquement peu viable pour une norme de phase 1)

- **Pour chaque souche d'essai**, vérifier que :
  - Na est compris entre :
    Pour la méthode par dilution-neutralisation : 140 et 3300 UFC/mL
    Pour la méthode par filtration sur membrane (division et répartition de l'échantillon sur plusieurs membranes) : 140 et 1650 UFC/mL
  - N est compris entre 1,5 x $10^8$ et 5,0 x $10^8$ UFC/mL (8,17 ≤ lg N ≤ 8,70)
  - $N_O$ est compris entre 1,5 x $10^7$ et 5,0 x $10^7$ UFC/mL (7,17 ≤ lg $N_O$ ≤ 7,70)
  - $N_{VO}$ est compris entre 30 et 160 UFC/mL (3,0 x $10^1$ et 1,6 x $10^2$)
  - $N_V$ est compris entre 3,0 x $10^2$ et 1,6 x $10^3$ UFC/mL
  - A, B, C ≥ 0,5 $N_{VO}$
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.

    - Na = nombre d'unités formant colonies par mL dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact (temps t) (Na = $V_c$x10).
    - $V_c$ = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
    - $N_o$ = nombre de cellules par mL dans le mélange d'essai au début du temps de contact (temps 0) ($N_o$ = N / 10).
    - $N_v$ = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - $N_{vo}$ = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0) ($N_{vo}$ = $N_v$ / 10).
    - A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact (non obligatoire, voir ci-dessus).
    - B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant ou témoin de filtration après 5 min.
    - C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.
    - $N_a$ = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai à l'issue du temps de contact et avant l'étape de neutralisation ou de filtration sur membrane.

- **Réduction** du nombre de cellules viables : lg (R) ≥ 5 lg (ou R lg ≥ 5).

lg ou $log_{10}$

***NF EN 1040 / NF T 72-152*** *(Avril 1997) (EN 1040 : février 1997)*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques. Activité bactéricide de base. Méthodes d'essai et prescriptions (phase 1).*
*Remplacée par la NF EN 1040 / NF T 72-152 / 2006.*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 1er janvier 2014.*

***NF T 72-150*** *(Novembre 1987 / annulées en septembre 1997)*
*Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables. Détermination de l'activité bactéricide. Méthode par dilution–neutralisation.*
*Exclusion de ProdHyBase® pour la totalité du spectre d'activité depuis le 30 juin 2007.*

***NF T 72-151*** *(Novembre 1987 / annulées en septembre 1997)*
*Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité bactéricide. Méthode par filtration sur membranes.*
*Exclusion de ProdHyBase® pour la totalité du spectre d'activité depuis le 30 juin 2007.*

**NF EN 1275 / NF T 72-202** (Avril 2006)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide ou levuricide de base des antiseptiques et des désinfectants chimiques. Méthode d'essai et prescriptions (phase 1).

- Cette norme peut être validée complètement (fongicidie) ou uniquement pour le niveau de levuricidie. PHB accepte une norme de fongicidie passée en 2 parties (2 dates ou 2 laboratoires différents) à condition qu'il s'agisse de la même version de la norme.

- **Température** de l'essai :
  - Obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - Additionnelles : 4°C, 10°C et 40°C (écart admis pour chaque température +/- 1°C).

- **Temps de contact** de l'essai :
  - Obligatoire : 15 min ± 10 s.
  - Additionnels : 1 min +/- 5 s, 5 min, 30 min ou 60 min +/- 10 s.

  Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 15 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.
  ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 15 min.
  Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

- **Souches testées** :
  **Fongicidie** (test sur *Candida albicans* et sur *Aspergillus brasiliensis* (ex *niger*)).
  **Levuricide** (test sur *Candida albicans* uniquement).
  - *Candida albicans :* ATCC 10231
    CIP 4872
    DSM 1386
    CBS 6431
    NCTC 3179

- *Aspergillus brasiliensis (niger)* ATCC 16404
  DSM 1988
  CBS 733.88
  CIP 1431.83
  NCTC 2275
  IMI 149007

– **Température d'incubation** des souches testées : 30°C +/- 1°C.

– **Prise d'essai** pour les produits solides au moins 1 g +/- 10 mg.

– **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).

– **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et pas d'apparition d'un précipité ou d'un floculat signalé au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et non fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 1275 / levuricidie 20°C – 15 min – 2 % (floculat).

– **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active (≥ 4 lg) et une concentration inactive (< 4 lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé.

– **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée (une concentration supérieure à la concentration la plus élevée est tolérée).

  o Témoin A (validation des conditions expérimentales choisies) : non obligatoire pour un essai à 20°C, temps de contact quelconque sur *Candida albicans* et *Aspergillus niger*.

  o Si neutralisant non valide : un essai par filtration sur membrane est possible.
  ProdHyBase® tolère les essais par filtration sur membrane même si le choix de l'utilisation de cette méthode n'est pas justifié sur le compte rendu.

– **Répétition recommandée de l'essai** (6 applications) avec possibilité de limiter la répétition à l'organisme d'essai limitant (organisme le moins sensible) (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne). Par conséquent, un produit testé plusieurs fois à une même concentration peut être actif et inactif ; le produit sera considéré malgré tout comme fongicide (ou levuricide) à cette concentration, si la moyenne des résultats des essais montre une réduction supérieure à 4 lg. (Note : Facultatif et économiquement peu viable pour une norme de phase 1)

– **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - $V_C$ est compris entre :
    **Pour la méthode par dilution-neutralisation :*
    14 et 330 UFC/mL pour les levures (*Candida*)
    14 et 165 UFC/mL pour les moisissures (*Aspergillus*)
    **Pour la méthode par filtration sur membrane* (division et répartition de l'échantillon sur plusieurs membranes) :

14 et 165 UFC/mL pour les levures (*Candida*)

14 et 55 UFC/mL pour les moisissures (*Aspergillus*)

- N est compris entre $1,5 \times 10^7$ et $5,0 \times 10^7$ UFC/mL ($7,17 \leq \lg N \leq 7,70$)
- $N_O$ est compris entre $1,5 \times 10^6$ et $5,0 \times 10^6$ UFC/mL ($6,17 \leq \lg N_O \leq 6,70$)
- $N_{VO}$ est compris entre 30 et 160 UFC/mL ($3,0 \times 10^1$ et $1,6 \times 10^2$)
- $N_V$ est compris entre $3,0 \times 10^2$ et $1,6 \times 10^3$ UFC/mL
- A, B, C $\geq 0,5\, N_{VO}$
- Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.

  - $V_c$ = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
  - N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
  - $N_o$ = nombre de cellules par mL dans le mélange d'essai au début du temps de contact (temps 0) ($N_o = N / 10$).
  - $N_v$ = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
  - $N_{vo}$ = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0) ($N_{vo} = N_v / 10$).
  - A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact (non obligatoire, voir ci-dessus).
  - B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant ou témoin de filtration après 5 min.
  - C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.
  - $N_a$ = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai à l'issue du temps de contact et avant l'étape de neutralisation ou de filtration sur membrane.

– **Réduction** du nombre de cellules viables : lg (R) ≥ 4 lg (ou R lg ≥ 4).

– **<u>NB</u> :** La *concentration levuricide* est la concentration du produit active la plus faible sur *Candida albicans*.
La *concentration fongicide* est la concentration du produit active la plus faible sur l'organisme d'essai limitant (organisme le moins sensible, c'est-à-dire nécessitant la concentration la plus élevée pour une activité fongicide).

***NF EN 1275 / NF T 72-202*** *(Juin 1997) (EN 1275 : Mars 1997)*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques. Activité fongicide de base. Méthodes d'essai et prescriptions (phase 1).*
*Remplacée par la NF EN 1275 / NF T 72-202 / 2006.*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 17/11/2003*

***NF T 72-200*** *(Septembre 1987 / annulée en novembre 1997)*
*Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables. Détermination de l'activité fongicide. Méthode par dilution–neutralisation.*
*Remplacée par la NF EN 1275 / NF T 72-202 / 1997.*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 17/11/2003*

***NF T 72-201*** *(Septembre 1987 / annulée en novembre 1997)*
*Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité fongicide. Méthode par filtration sur membranes.*
*Remplacée par la NF EN 1275 / NF T 72-202 / 1997.*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 17/11/2003*

***NF T 72-180*** *(Décembre 1989 / annulée en juillet 2006)*

*Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité virucide vis-à-vis des virus vertébrés.*
*Remplacée par la NF EN 14476 (phase 2 étape 1).*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 1er août 2009.*

**NF EN 14347 / T 72-232** (août 2005) (EN 14347 : mars 2005)
Désinfectants et antiseptiques chimiques. Activité sporicide de base. Méthode d'essai et exigences (phase 1).

- **Température** de l'essai :
  - Obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - Additionnelles : à prendre en considération si elles reflètent les conditions d'utilisation.

- **Temps de contact** de l'essai :
  - Obligatoire : 30 min ± 10 s ou 60 min ± 10 s ou 120 min ± 60 s.
  - Additionnels : à prendre en considération si elles reflètent les conditions d'utilisation.

  ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures additionnelles et des temps de contact inférieurs à 30 min ± 10 s sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 30 min, 60 min ou 120 min.
  Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

- **Souches testées** :
  - *Bacillus subtilis subsp. Spizizenii* ATCC 6633, DSM 347, NCTC 10400, CCM 19999, IAM 1069, NCIB 8054, CIP 52.62
  - *Bacillus cereus* ATCC 12826, CIP 105151

- **Contrôle de la sensibilité de la suspension de spores bactériennes** au glutaraldéhyde et à l'acide peracétique de référence.
  La date de dernier contrôle avant l'essai de la sensibilité et de la pureté de la suspension doit être indiquée. Vérifier qu'elle date de moins d'un mois si la souche est utilisée en continu.

- **Température d'incubation** des souches testées : 30°C.

- **Prise d'essai** : pour les produits solides 1g +/- 10 mg.

- **Dilution** pour la solution d'essai du produit : en eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).

- **Concentrations testées** : 3 concentrations de produit en progression géométrique d'un facteur au moins 2 (en doublant les concentrations). ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé. Dans le rapport doit apparaître une concentration active (≥ 4 lg) et une autre qui ne l'est

pas (< 4 lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la méthode est validé.

- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et pas d'apparition d'un précipité ou d'un floculat signalé au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et non fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre : Ex. NF EN 14347 / 20°C – 30 min – 5 % (floculat).

- **Technique de dénombrement des spores** : doit être indiquée (dénombrement à la surface ou dénombrement en profondeur).

- **Neutralisation :** contrôlée pour chacune des souches et dans chacune des conditions expérimentales (temps de contact et température) pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée, une concentration double et la moitié de la concentration. Le neutralisant doit être validé pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.
Il doit l'être dans un bouillon tryptone soja (TSB) *avec neutralisant et sans neutralisant*.

- **Concentration sporistatique** : doit être indiquée (il est possible que l'activité sporistatique n'ait pas pu être mise en évidence mais elle doit avoir été recherchée).

- **Répétition recommandée de l'essai** (6 répétitions) avec possibilité de limiter la répétition à l'organisme d'essai limitant (moyenne des résultats ≥ 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne). Par conséquent, un produit testé plusieurs fois à une même concentration peut être actif et inactif ; le produit sera considéré malgré tout comme sporicide à cette concentration, si la moyenne des résultats des essais montre une réduction supérieure à 4 lg.

- **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - Les résultats de la valeur moyenne ξ et de l'écart type **s** du dénombrement des spores doivent apparaître dans le rapport d'essai.

  - $V_c$ est compris entre 14 et 330 UFC / mL
  - $N_1$ est compris entre 3 x $10^8$ UFC / mL et 1 x $10^9$ UFC / mL ($8,48 \leq \lg N_1 \leq 9,00$)
  - $N_2$ est compris entre 3 x $10^2$ UFC / mL et 1 x $10^3$ UFC / mL ($2,48 \leq \lg N_2 \leq 3,00$)
  - $N_v$ est compris entre 3 x $10^4$ UFC / mL et 1 x $10^5$ UFC / mL ($4,48 \leq \lg N_v \leq 5,00$)
  - $N_w$ est compris entre 3 x $10^7$ UFC / mL et 1 x $10^8$ UFC / mL ($7,48 \leq \lg N_w \leq 8,00$)
  - B ≥ Nw (8,00 ≥ lg Nw ≥ 7,48)
  - C est compris entre 3 x $10^4$ UFC / mL et 1 x $10^5$ UFC / mL ( = $N_v$) ($4,48 \leq \lg N_v \leq 5,00$).
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyennes pondérées : le quotient entre deux dilutions successives (ex. Vc1 $10^{-1}$ et le Vc1 $10^{-2}$) doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.

    - $V_c$ = nombre d'UFC dénombrées par échantillon de 1 mL (ou 1 g +/- 10 mg) (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs ci-dessous sont calculées)
    - $N_1$ = nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai $N_1$
    - $N_2$ = nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai $N_2$
    - $N_v$ = nombre de cellules par ml dans la suspension de validation
    - $N_w$ = « témoin eau » : nombre de cellules par ml dans l'eau à la fin du temps de contact et avant neutralisation
    - $N_a$= nombre de spores survivant par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact et avant neutralisation
    - B et C = nombre de spores survivant dans le contrôle du neutralisant (B) et la validation de la méthode (C) à la fin du temps de contact le plus long dans l'essai réel (B) ou le temps défini de 30 min +- 1 min (C).

- **TNO** (tube de neutralisation original) : présente une croissance visible après inoculation (essai non valable en cas d'absence de croissance visible).

– **Réduction** du nombre de cellules viables (R= $N_w/N_a$) **:** lg (R) ≥ 4 lg (ou R lg ≥ 4).

– **Concentration sporicide** : concentration du produit active la plus faible sur l'organisme d'essai limitant (organisme le moins sensible, c'est-à-dire nécessitant la concentration la plus élevée pour une activité sporicide).

**NF T 72-230** (Août 1988)
Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables. Détermination de l'activité sporicide. Méthode par dilution–neutralisation.

– **Temps de contact** : 1 heure à 20°C et (ou) 5 min à 75°C (à préciser lors de la sélection des normes).

– **Température** de l'essai : 20°C et (ou) 75°C (à préciser lors de la sélection des normes).

– **Souches testées** (souches d'origine humaine) :
  - *Bacillus cereus* CIP 7803
  - *Bacillus subtilis* var. *niger* CIP 7718, ATCC 9372
  - *Clostridium sporogenes* 51 CIP 7939

– **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - n' ≥ 0,5 N' et N' peu différent de $N_1$
  - N' et $N_1$ compris entre 100 et 300 colonies.

– **Réduction** du nombre spores vivantes : n ≤ N/10 avec N compris entre 100 et 300 colonies soit log (R) ≥ $10^5$ ou 5 lg.

– **Concentration active :** précisée dans le champ en texte libre.

**NF T 72-231** (août 1988)
Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité sporicide. Méthode par filtration sur membranes.

– **Temps de contact** : 1 heure à 20°C et (ou) 5 min à 75°C (à préciser lors de la sélection des normes).

– **Température de l'essai** : 20°C et (ou) 75°C (à préciser lors de la sélection des normes).
– **Souches testées** (souches d'origine humaine) :
  - *Bacillus cereus* CIP 7803
  - *Bacillus subtilis* var. *niger* CIP 7718, ATCC 9372
  - *Clostridium sporogenes* 51 CIP 7939

- **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - N' compris entre 50 et 150 colonies
  - n' et N' sont équivalents (n' ≥ 0,5 N').

- **Réduction** du nombre spores vivantes : n ≤ N avec N compris entre 50 et 150 colonies soit log (R) ≥ $10^5$ ou 5 lg.

- **Concentration active :** précisée dans le champ en texte libre.

***NF T 72-300*** *(Novembre 1989)*
*Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'efficacité des produits sur divers microorganismes dans les conditions pratiques d'emploi. Essai de suspension par dilution-neutralisation. Produit pour surfaces en contact avec les denrées alimentaires.*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 02/5/2009.*

***NF T 72-301*** *(Novembre 1989)*
*Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'efficacité des produits sur divers microorganismes dans les conditions pratiques d'emploi. Essai de suspension par filtration sur membranes.*
*Annulée en Juin 2007.*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 02/05/2009*

## 1-2 NORMES D'APPLICATION POLYVALENTES

***NF T 72-170*** *(Novembre 1988)*
*Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables. Détermination de l'activité bactéricide en présence de substances interférentes de référence. Méthode par dilution-neutralisation.*

- *La norme NF T 72-170 a été remplacée pour les mains, les surfaces et les dispositifs médicaux, par la norme NF EN 13727 de 2012. Par conséquent, elle n'est plus retenue dans ProdHyBase®.*

*Remplacée par la NF EN 13727 / NF T 72-175 / 2012.*
*Exclusion de ProdHyBase® le 01/01/2015.*

***NF T 72-171*** *(Novembre 1988)*
*Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité bactéricide en présence de substances interférentes de référence. Méthode par filtration sur membranes.*

- *La norme NF T 72-171 a été remplacée pour les mains, les surfaces et les dispositifs médicaux par la norme NF EN 13727 de 2012. Par conséquent, elle n'est plus retenue dans ProdHyBase®.*

*Remplacée par la NF EN 13727 / NF T 72-175 / 2012.*
*Exclusion de ProdHyBase® le 01/01/2015.*

**NF EN 13727 / NF T 72-175** (Juillet 2012)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide en médecine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

- Norme qui s'applique **aux produits utilisés en médecine** dans la désinfection hygiénique et chirurgicale des mains par friction ou par lavage, la désinfection des instruments par immersion ou la désinfection des surfaces par essuyage, pulvérisation, inondation ou d'autres moyens.

- Les données obtenues avec la version précédente de la NF EN 13727 peuvent encore être utilisées sous réserve de reformuler et vérifier les exigences de la présente norme. Si une version antérieure ou un prEN est passé par le laboratoire, PHB accepte une attestation du laboratoire qui a fait le test affirmant qu'il n'y a pas de différence entre la méthode du projet de norme et la dernière version de la norme ; si et seulement si le projet de norme a été passé au maximum dans les 6 mois après la parution de la dernière version de la norme.

- **Température** de l'essai : Variable selon les applications, avec plage de choix pour les désinfectants de DM et de surfaces (par exemple température d'essai possible à 4°C pour les produits désinfectants des réfrigérateurs ou à 70°C pour les produits pour DM. Cf. Tableau 1
  Ecart admis pour chaque température choisie : +/- 1°C

- **Temps de contact** de l'essai : Variable selon les applications Cf. Tableau 1
  Ecart admis pour chaque temps de contact choisi : +/- 10 s ; sauf pour 1 min ou moins, écart admis de 5 s.

Le produit doit être testé dans les conditions obligatoires de température et de temps de contact, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.

ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé dans les conditions de température et de temps de contact obligatoires à condition que la température et le temps de contact restent dans les intervalles fixés dans la dite norme (Cf. Tableau 1).
Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

Les produits conçus pour désinfecter les surfaces susceptibles d'être en contact avec le patient et/ou le personnel soignant, et donc d'une transmission de micro-organismes au patient, et pour lesquels le temps de contact doit être limité pour des raisons pratiques, doivent impérativement être soumis à essai en 5 min (temps de contact obligatoire). Les produits utilisés pour des surfaces autres que celles indiquées ci-dessus peuvent être soumis à l'essai avec un temps de contact obligatoire de 60 min.

- **Souches testées** : pour connaître les souches parmi celles ci-dessous qui sont à tester obligatoirement en fonction de l'usage, se reporter au Tableau 1

  - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442<br>CIP 103467<br>DSM 939<br>NCIB 10421
  - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538<br>CIP 4.83<br>DSM 799<br>NCTC 10788<br>NCIB 9518
  - *Escherichia coli K12* CIP 54.117<br>NCTC 10538<br>NCIMB 10083
  - *Enterococcus hirae* ATCC 10541<br>CIP 5855<br>DSM 3320<br>NCIMB 8192
  - *Enterococcus faecium* ATCC 6057<br>DSM 2146

- **Température d'incubation** des souches testée : 36-37°C ± 1°C

- **Substances interférentes** : Cf. Tableau 1

- **Prise d'essai** pour les produits solides : au moins 1 g ± 10 mg.

- **Diluant** pour la solution d'essai du produit :
  - **Tous usages** (sauf produits de lavage des mains) : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable)
  - Pour les **produits de lavage des mains** : dilution préalable obligatoire avec de l'eau dure pour l'obtention d'une concentration à 62,5 % (soit concentration acceptée la plus élevée 50 %).

- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionné et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire. <u>En cas de floculat la norme n'est pas validée.</u>

- **Concentration d'essai** max : 80%.
  Pour les produits prêts à l'emploi n'entraînant pas la réduction requise avec la méthode habituelle, une méthode modifiée peut être employée. Elle permet d'obtenir une concentration de produit de 97 %.
  Cette méthode modifiée ne peut pas être appliquée aux produits de lavage des mains.

  **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active et une concentration inactive. ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.

- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.

- **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant. Pour une précision de +/- 1 log : 4 répétitions dans le cas le plus favorable, 6 dans le cas le plus défavorable sont recommandées avec l'organisme le moins sensible (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 5 lg – 3 lg dans le cas d'un lavage des mains - avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).

- **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - N est compris entre 1,5 x $10^8$ et 5,0 x $10^8$ UFC/mL (8,17 ≤ lg N ≤ 8,70)
    N (méthode modifiée pour les produits prêts à l'emploi n'entraînant pas la réduction attendue selon la méthode habituelle) est compris entre 1,5 x $10^9$ et 5,0 x $10^9$ UFC/mL (9,17 ≤ lg N ≤ 9,70)
  - $N_O$ est compris entre 1,5 x $10^7$ et 5,0 x $10^7$ UFC/mL (7,17 ≤ lg $N_O$ ≤ 7,70)
  - $N_{VO}$ est compris entre 30 et 160 UFC/mL (3,0 x $10^1$ et 1,6 x $10^2$)
  - $N_V$ est compris entre 3,0 x $10^2$ et 1,6 x $10^3$ UFC/mL
    $N_V$ (méthode modifiée) est compris entre 3,0 x $10^3$ et 1,6 x $10^4$ UFC/mL
  - $N_{VB}$ est compris entre 3,0 x $10^4$ et 1,6 x $10^5$ UFC/mL
  - A, B, C ≥ 0,5 $N_{vo}$
  - B (dilution-neutralisation) est ≥ 0,0005 $N_{vB}$ (moitié d'un millième)
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum. Ceci nécessite la présence d'un tableau avec tous les dénombrements aux différentes dilutions.

    <u>**NB**</u> : Si la méthode modifiée est utilisée pour les produits prêts à l'emploi, les limites pour N et $N_v$ sont 10 fois plus élevées, mais $N_o$, $N_{vo}$ et $N_{vB}$ restent inchangés.

    - $V_c$ = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
    - No = nombre de cellules par mL dans le mélange d'essai au début du temps de contact (temps 0) (No = N / 10).
    - Nv = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - Nvo = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0) (Nvo = Nv / 10).
    - Na = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai à l'issue du temps de contact et avant l'étape de neutralisation ou de filtration sur membrane.

lg ou $\log_{10}$

- A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact.
- B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant ou témoin de filtration après 5 min.
- C = nombre de survivants dans le mélange de validation.

– **Réduction** du nombre de colonies (ou cellules viables) : les exigences diffèrent selon les applications :

- *Produits de friction*:
  - lg R ≥ 5 en 1 min dans les conditions de propreté (friction hygiénique des mains)
  - lg R ≥ 5 en 5 min dans les conditions de propreté (friction chirurgicale des mains)

  Pour les produits qui permettent la réduction logarithmique requise en 1 min et en 5 min, seul le temps d'1 min sera affiché dans ProdHyBase®.

- *Produits de désinfection des instruments* :
  - lg R ≥ 5 en 60 minutes maximum avec la substance interférente choisie

- *Produits de désinfection des surfaces* :
  - lg R ≥ 5 en 5 minutes maximum avec la substance interférente choisie





**TABLEAU 1 - NF EN 13727 : 2012 – CONDITIONS D'ESSAI MINIMALES ET ADDITIONNELLES***

| **Conditions d'essai** | | **Friction et lavage hygiéniques des mains** | **Friction et lavage chirurgicaux des mains** | **Désinfection de dispositifs médicaux** | **Désinfection des surfaces** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Souches d'essai obligatoires** | | *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus hirae, Escherichia coli K12* | *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus hirae, Escherichia coli K12* | *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus hirae Lorsque T° ≥ 40°C, uniquement E. faecium* | *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus hirae* |
| **Température d'essai** | | Conformément aux recommandations du fabricant mais comprise entre | | | |
| | | 20 °C et 20 °C | 20 °C et 20 °C | 20 °C et 70 °C | 4°C et 30 °C |
| **Temps de contact** | | Conformément aux recommandations du fabricant | | | |
| | | Compris entre | | mais pas supérieur à | |
| | | 30 s et 60 s | 1 min et 5 min | 60 min | 5 min (ou 60 min**) |
| **Substances interférentes** | **Conditions de propreté** | 0,3 g/L d'albumine bovine (Friction hygiénique des mains) | 0,3 g/L d'albumine bovine (Friction chirurgicale des mains) | 0,3 g/L d'albumine bovine et/ou 3,0 g/L d'albumine bovine + 3,0 mL/L d'érythrocytes | 0,3 g/L d'albumine bovine et/ou 3,0 g/L d'albumine bovine + 3,0 mL/L d'érythrocytes |
| | **Conditions de saleté** | 3,0 g/L d'albumine bovine + 3,0 mL/L d'érythrocytes (Lavage hygiénique des mains) | 3,0 g/L d'albumine bovine + 3,0 mL/L d'érythrocytes (Lavage chirurgical des mains) | | |

*A préciser dans le rapport.
** Les produits conçus pour désinfecter les surfaces susceptibles d'être en contact avec le patient et/ou le personnel soignant, et donc d'une transmission de micro-organismes au patient, et pour lesquels le temps de contact doit être limité pour des raisons pratiques, doivent être soumis à essai en 5 min (temps de contact obligatoire). Les produits utilisés pour des surfaces autres que celles indiquées ci-dessus peuvent être soumis à l'essai avec un temps de contact obligatoire de 60 min.

***prNF EN 13727 / T 72-175PR** (Novembre 2009)*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide des désinfectants chimiques utilisés en médecine. Méthode d'essai et exigences (phase 2 / étape 1).*
*Si une version antérieure ou un prEN est passé par le laboratoire, PHB accepte une attestation du laboratoire qui a fait le test affirmant qu'il n'y a pas de différence entre la méthode du projet de norme et la dernière version de la norme ; si et seulement si le projet de norme a été passé au maximum dans les 6 mois après la parution de la dernière version de la norme.*
*Remplacée par la NF EN 13727 / NF T 72-175 / 2012.*
*Exclusion de ProdHyBase® le 01/01/2015.*

**NF EN 13624 / NF T 72-600** (Novembre 2013)
Désinfectants chimiques et antiseptiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide ou levuricide en médecine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

- Essai applicable aux désinfectants chimiques destinés à la désinfection :
  - par immersion des instruments médicaux, dont les désinfectants chimiques d'instruments médicaux non couverts par la directive européenne CEE 93/42 sur les dispositifs médicaux
  - des surfaces
  - des mains.

- Les données de la dernière version de la NF EN 13624 peuvent toujours être utilisées si la qualité des conidiospores d'*A. brasiliensis* a été contrôlée et a satisfait aux exigences de la présente norme. Une attestation doit être fournie par le laboratoire responsable des essais, spécifiant que la proportion de conidiospores épineux est au moins égale à 75% (cf. ci-dessous).

- 
- **Conditions d'essai**
- **Température** de l'essai :
  - Pour les mains : 20°C ± 1°C
  - Pour les surfaces : entre 4 et 30°C ± 1°C
  - Pour les DM : entre 20°C et 70°C ± 1°C

- **Temps de contact** de l'essai :
  - Pour la friction des mains :
    - Hygiénique : 1 min ± 5 s
    - Chirurgicale : 5 min ± 10 s
  - Pour les surfaces : 5 min ± 10 s (max. 60 min quand cela est possible en pratique)
  - Pour les DM : 60 min ou moins ± 10 s

- **Souches testées** :
- **Levuricide** (test sur *Candida albicans* uniquement) : surfaces, DM et mains
  **Fongicidie** (test sur *Candida albicans* et sur *Aspergillus brasiliensis* (ex *niger*)). : surfaces et DM

- *Candida albicans*

| | | |
|---|---|---|
| **ATCC** | **10231** |
| CIP | 4872 |
| DSM | 1386 |
| CBS | 6431 |
| NCTC | 3179 |

- *Aspergillus brasiliensis (ex niger)*

| | |
|---|---|
| **ATCC** | **16404** |
| DSM | 1988 |
| CBS | 733.88 |
| CIP | 1431.83 |
| NCTC | 2275 |
| IMI | 149007 |

– **Température d'incubation** des souches testées : 30°C ± 1°C.

– **Vérification de la qualité des conidiospores :** sinon refus de la suspension (et de l'essai)
  - 75 % de conidiospores épineuses
  - Absence de conidiospores germées
  - Absence de fragments de mycélium (possibilité d'une filtration suppl. pour les éliminer)

– **Substances interférentes** :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L.
  (Concentrations différentes en méthode modifiée).

Pour les frictions des mains, uniquement en condition de propreté.

– **Diluant** du produit : eau dure (sauf pour les produits prêts à l'emploi : eau distillée ou eau p.p.i.).
Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

– **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable.

– **Concentrations testées** : au moins 3 concentrations dont une active et une inactive.
Les produits ne peuvent être soumis à l'essai qu'à des concentrations ≤ 80 % (97 % dans les cas d'un produit prêt à l'emploi : « méthode modifiée » pour diminuer la dilution du produit. Vérifier que cette méthode modifiée soit spécifiée.

– **Neutralisation** : Neutralisant validé (Cf. Grille générale) <u>si</u> méthode par dilution-neutralisation.
Validation à la concentration d'essai du produit la plus élevée, pour chaque souche et chaque condition expérimentale.

– **Répétitions** : 4 au moins.

– **Pour chaque souche d'essai** :
  - $V_c$ *Candida albicans* compris entre 14 et 330 UFC/mL
  $V_c$ *A. brasiliensis* compris entre 14 et 165 UFC/mL
  - N est compris entre 1,5 x $10^7$ et 5,0 x $10^7$ UFC/mL (7,17 ≤ lg N ≤ 7,70) pour les produits à diluer et entre 1,5 x $10^8$ et 5,0 x $10^8$ UFC/mL (8,17 ≤ lg N ≤ 8,70) pour les produits prêts à l'emploi

- $N_O$ est compris entre 1,5 x $10^6$ et 5,0 x $10^6$ UFC/mL (6,17 ≤ lg $N_O$ ≤ 6,70)
- $N_{VO}$ est compris entre 30 et 160 UFC/mL (3,0 x $10^1$ et 1,6 x $10^2$)
- $N_V$ est compris entre 3,0 x $10^2$ et 1,6 x $10^3$ UFC/mL pour les produits à diluer et entre 3,0 x $10^3$ et 1,6 x $10^4$ UFC/mL pour les produits prêts à l'emploi
- $N_{VB}$ est compris entre 3,0 x $10^4$ et 1,6 x $10^5$ UFC/mL (Témoin de neutralisation)
- A, B, C ≥ 0,5 $N_{VO}$
- Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient de la moyenne des résultats entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum

– Réduction du nombre de cellules viables : ≥ $10^4$ ou 4 log.
~~Sauf 2 log pour le lavage des mains.~~

A : Vérification de l'absence d'effet létal des conditions d'essai
B : Vérification de l'absence de toxicité du neutralisant
C : Validation de la méthode

**Tableau 1 — Conditions d'essai minimales et additionnelles**

| Conditions d'essai | Lavage et friction hygiéniques des mains | Lavage et friction chirurgicaux des mains | Désinfection d'instrument | Désinfection de surface |
|---|---|---|---|---|
| **Spectre minimal des souches d'essai** | *Candida albicans* (cellules végétatives) | *Candida albicans* (cellules végétatives) | a) **activité fongicide** : *Aspergillus brasiliensis* (conidiospores) *Candida albicans* (cellules végétatives)<br>b) **activité levuricide** : *Candida albicans* (cellules végétatives) | a) **activité fongicide** : *Aspergillus brasiliensis* (conidiospores) *Candida albicans* (cellules végétatives)<br>b) **activité levuricide** : *Candida albicans* (cellules végétatives) |
| Supplémentaires | Toute autre souche d'essai | | | |
| Température d'essai | selon les recommandations du fabricant, mais à/entre | | | |
| | 20 °C | 20 °C | 20 °C et 70 °C | 4 °C et 30 °C |
| Temps de contact | selon les recommandations du fabricant, mais entre | | sans jamais dépasser | |
| | 30 s et 60 s [b] | 1 min et 5 min | 60 min | 5 min ou 60 min [a] |
| **Substance interférente** conditions de propreté | 0,3 g/l de solution d'albumine bovine (friction hygiénique des mains) [b] | 0,3 g/l de solution d'albumine bovine (friction chirurgicale des mains) [b] | 0,3 g/l de solution d'albumine bovine | 0,3 g/l de solution d'albumine bovine |
| conditions de saleté | 3,0 g/l de solution d'albumine bovine + 3,0 ml/l d'érythrocytes (lavage hygiénique des mains) [c] | 3,0 g/l de solution d'albumine bovine + 3,0 ml/l d'érythrocytes (lavage chirurgical des mains) [c] | et/ou 3,0 g/l de solution d'albumine bovine + 3,0 ml d'érythrocytes | et/ou3,0 g/l de solution d'albumine bovine + 3,0 ml d'érythrocytes |
| b) Additionnelles | — | — | Toute substance pertinente | Toute substance pertinente |

NOTE Dans les conditions additionnelles, la concentration ainsi définie peut être inférieure à celle obtenue dans les conditions d'essai minimales.

[a] Les temps de contact pour les désinfectants de surface énoncés dans ce tableau sont déterminés à partir d'applications pratiques du produit. Le temps de contact recommandé pour l'utilisation du produit est de la responsabilité du fabricant. Les produits destinés à désinfecter les surfaces susceptibles d'entrer en contact avec le patient et/ou le personnel médical et les surfaces fréquemment touchées par de nombreuses personnes et pouvant transmettre des micro-organismes au patient, doivent être soumises à essai avec un temps de contact d'au moins 5 min. Il en est de même lorsque le temps de contact du produit doit être limité pour des raisons pratiques. Les produits destinés à d'autres surfaces peuvent être soumis à essai avec un temps de contact maximal de 60 min.

[b] Les produits de friction hygiéniques et chirurgicaux doivent être soumis à essai dans des conditions de propreté minimales.

[c] Les produits de friction hygiéniques et chirurgicaux doivent être soumis à essai dans des conditions de saleté minimales.






**NF EN 14476 / T 72-185** (septembre 2013)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).
Pour instruments par immersion, surfaces, mains ou textiles.
**Pour les mains**, il existe comme pour les normes de fongicidie la possibilité de valider une virucidie à spectre limité. Cette situation a été différentiée dans ProdHyBase®.

– **Conditions d'essai :**

| **Usage** | **Désinfection des instruments**<br>***+ Désinfection chimiothermique*** | **Désinfection des surfaces** | **Traitement hygiénique des mains par friction** | **Traitement des textiles** |
|---|---|---|---|---|
| Virus d'essai | *Poliovirus*<br>*Adénovirus*<br>*Norovirus murin*<br>Lorsque la T° est de 40°C ou plus : uniquement *Parvovirus* | *Poliovirus*<br>*Adénovirus*<br>*Norovirus murin* | *Poliovirus*<br>*Adénovirus*<br>*Norovirus murin*<br>***Activité virucide à spectre limité***[Δ]<br>*Adénovirus*<br>*Norovirus murin* | *Parvovirus* |
| Température d'essai | Selon les recommandations du fabricant mais comprises entre<br>20°C et 70°C | 4°C et 30°C | 20°C | 30°C et 70°C |
| Temps de contact | Selon les recommandations du fabricant mais n'excédant pas<br>60 min ± 10 s | 5 ou 60 min± 10 s* | Entre 30 s ± 5 s et 2 min ± 10 s | 20 min ± 10 s |
| Substances interférentes<br>• Propreté | 0,3 g/L d'albumine bovine sérique<br>et / ou | 0,3 g/L d'albumine bovine sérique<br>et / ou | 0,3 g/L d'albumine bovine sérique (frictions) | - |
| • Saleté | 3 g/L d'albumine bovine sérique + 3 mL/L d'érythrocytes de mouton | 3 g/L d'albumine bovine sérique + 3 mL/L d'érythrocytes de mouton | - | 3 g/L d'albumine bovine sérique + 3 mL/L d'érythrocytes de mouton |

[Δ]L'essai portant sur l'activité virucide à spectre limité couvrira tous les virus enveloppés. Liste d'exemples de virus à la fin de la norme.
* Les temps de contact des désinfectants de surfaces sont choisis sur la base des conditions pratiques d'utilisation du produit. Le temps de contact recommandé pour l'utilisation du produit relève de la responsabilité du fabricant.
Les produits qui sont destinés à désinfecter des surfaces susceptibles d'entrer en contact avec le patient et/ou le personnel médical et des surfaces fréquemment touchées par des personnes différentes doivent être soumis à essai avec un temps de contact de 5 min. Les mêmes conditions s'appliquent lorsque le temps de contact du produit doit être limité pour des raisons pratiques. Pour les autres surfaces, temps maximum de 60 min.
Les essais à des températures > à 20°C, quels que soient les degrés de température, sont acceptés et inclus dans ProdHyBase® pour les produits destinés à la désinfection des générateurs de dialyse rénale et pour les produits pour laveurs-désinfecteurs de DM.

- **Souches testées :**

  - *Poliovirus* type 1, souche LSc-2ab (Picornavirus)
    Lignée cellulaire : cellules HeLa ou toutes autres lignées cellulaires produisant des titres élevés de *Poliovirus* infectieux.

  - *Adénovirus* type 5, souche Adénoïd 75, ATCC VR-5
    Lignée cellulaire : cellules HeLa ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée à l'*Adenovirus*.

  - *Norovirus murin*, souche S99 Berlin, Friedrich Löffler-Institut
    Lignée cellulaire : cellules RAW 264.7 (ATCC TIB-71).

  - *Parvovirus murin,* souche Crawford, ATCC VR-1346
    Lignée cellulaire : cellules A9, ATCC CCL-1.4

- **Température d'incubation** : 36-37°C ± 1°C, à condition que la T° soit la même pour toutes les étapes.

- **Prise d'essai** pour un solide est de 1g ± 0,01g.

- **Dilution** du produit : eau dure.
  Pour les produits prêts à l'emploi → eau bi-distillée ou eau p.p.i. (pour préparations injectables).
  Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés. Si floculat ou précipité, le mentionner dans le rapport.

- **Concentration maximum d'essai** : 80%. 97% avec une méthode modifiée dans certains cas particuliers (PAE).

- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations différentes dont une doit être active (≥ 4 log) et une non active (≤ 4 log). ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé.

- **Validation de la méthode si** :
  - **Suspension virale d'essai** a une $DICT_{50} \geq 1.10^8$ /mL (lg $DICT_{50} \geq 8$) ou possède une concentration qui permet de déterminer une réduction de 4 lg du titre viral.

  - **Contrôle de la sensibilité des virus** par des essais d'inactivation (formaldéhyde, glutaraldéhyde ou a. peracétique) : la différence des titres, exprimés en logarithmes, entre le témoin viral et le virus d'essai utilisé lors de l'essai de référence dans l'essai d'inactivation est comprise :
    1. entre – 0,5 et – 2,5 après 30 min et entre – 2 et – 4,5 après 60 min pour le poliovirus,
    2. entre – 3 et – 5 après 30 min et entre – 3,5 et – 5,5 après 60 min pour l'adénovirus
    3. entre 0,0 et 2,0 après 30 min et entre 0,5 et 2,5 après 60 min pour le parvovirus.

lg ou $log_{10}$

- **Cytotoxicité du produit** n'affecte pas la morphologie et la croissance cellulaire dans les dilutions des mélanges d'essai qui sont nécessaires pour démontrer une réduction de 4 lg du titre viral (pas d'obligation de notification dans le PV)

  **Susceptibilité des cellules pour le virus d'essai** : non affectée par la plus basse dilution non cytotoxique. Le titrage comparatif du virus sur les cultures cellulaires traitées avec des dilutions du mélange d'essai et en parallèle (c'est-à-dire ajout du tampon PBS uniquement) a pour résultat une différence < 1 lg du titre viral ou perte < 25% des cellules en monocouches et permettant de démontrer une réduction de 4 lg du titre viral.

- **Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité virucide** du désinfectant avec indication du mode opératoire de l'arrêt de l'action du produit : dilution à froid ou filtration, et du niveau de cytotoxicité. Différence de titre avec la solution d'essai < 0,5 lg.

– **Tableaux des résultats et présentation graphique** de tous les résultats avec témoin au formaldéhyde ou autre produit adéquat. ProdHyBase® tolère pour l'instant les PV qui ne comportent que les tableaux des résultats ou que les graphiques, dès l'instant où il est possible de retrouver l'ensemble des résultats.

– **Réduction** des titres : Le produit est virucide si log (R) ≥ 4 lg.

– Le rapport d'essai doit au minimum comporter les informations suivantes :
  - Référence de la norme
  - Nom du laboratoire d'essai
  - Identification de l'échantillon
    - Nom du produit
    - Numéro de lot
    - DLU
    - Fabricant
    - Date de livraison
    - Conditions de stockage
    - Composants actifs
  - Conditions expérimentales
    - Date de l'essai
    - Diluant
    - T° d'essai
    - Méthode de titrage
    - Concentrations d'essai
    - Aspect du produit et de ses dilutions
    - Temps de contact
    - Mode opératoire pour arrêter l'action du produit
    - Substances interférentes
    - Virus d'essai : nom, source, nombre de passage, lignées cellulaires
    - T° d'incubation
  - Validation des résultats de l'essai
    - Titre de la suspension virale
    - Inactivation maximale détectable du virus
    - Inactivation du virus lors de l'essai d'inactivation du virus de référence après 60 min

  - Présentation des résultats de l'essai
    - Description
    - Tableau des résultats

- Titre viral [IC 95%]
- Taux de réduction [IC 95%]
- Présentation graphique de tous les résultats avec le témoin formaldéhyde
- Conclusion
- Date et signature

EN 14476:2013 (F)

## Annexe A

(informative)

### Exemples de virus classés en fonction de leur localisation et/ou des organes cibles lors des infections virales

Ces virus peuvent contaminer les mains, les instruments, d'autres surfaces et les textiles.

NOTE 1 Cette liste n'est pas exhaustive.

NOTE 2 Les virus enveloppés sont en gras.

Sang

*Entérovirus*
***Filoviridae***
***Flavivirus***
***Herpesviridae***
Virus de l'hépatite A (VHA)
**Virus de l'hépatite B (VHB)**
**Virus de l'hépatite C (VHC)**
**Virus de l'hépatite delta (VHD)**
**Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)**
**Virus de la leucémie humaine à cellules T (HTLV)**
*Parvovirus B19*

Voies respiratoires

*Adénovirus (Mast-)*
***Coronavirus***
*Entérovirus*
***Herpesviridae***
**Virus de la grippe**
***Paramyxoviridae***
*Rhinovirus*
**Virus de la rubéole**

Tissu neuronal, oreille et nez, œil

*Adénovirus (Mast-)*
*Entérovirus*
***Herpesviridae***
**Virus de la rougeole**
**Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)**
*Polyomavirus*
**Virus de la rage**
**Virus de la rubéole**

Voies gastro-intestinales

Adénovirus (Mast-)
*Caliciviridae*
***Coronavirus***
*Astrovirus*
*Entérovirus*
Virus de l'hépatite A (VHA)
Virus de l'hépatite E (VHE)
*Rotavirus*

Peau, poitrine et/ou lait

*Entérovirus*
***Herpesviridae***
**Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)**
**Virus de la leucémie humaine à cellules T (HTLV)**
*Papillomavirus*
***Poxviridae***

Rate et ganglion lymphatique (voir aussi «Sang»)

**Virus de la leucémie humaine à cellules T (HTLV)**
**Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)**

**EN 14476:2013 (F)**

Mode opératoire dentaire

| | |
|---|---|
| *Adénovirus (Mast-)* | **Virus de l'hépatite C (VHC)** |
| *Entérovirus* | **Virus de l'hépatite delta (VHD)** |
| ***Herpesviridae*** | **Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)** |
| **Virus de l'hépatite B (VHB)** | |

Voie urogénitale

| | |
|---|---|
| **Virus de l'hépatite B (VHB)** | **Virus de la leucémie humaine à cellules T (HTLV)** |
| ***Herpesviridae*** | *Papillomavirus* |
| **Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)** | *Polyomavirus* |

Référence :

Van Regenmortel MHV *et al.* : «Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses» (Taxonomie virale, classification et nomenclature des virus), septième rapport du Comité international de taxonomie virale (ICTV).

Academic Press, San Diego, 2000.

***NF EN 14476 + A1 / T 72-185*** *(janvier 2007)*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai virucide quantitatif de suspension pour les antiseptiques et désinfectants chimiques utilisés en médecine humaine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).*
*Remplacée par la NF EN 14476 / NF T72-185 / septembre 2013.*
*Exclusion de ProdHyBase® le 01/01/2016.*

– **Conditions d'essai** :

| Conditions d'essai | Surfaces et Instruments | Mains | Désinfection chimiothermique |
|---|---|---|---|
| Souches testées<br>(détails ci-dessous) | *Poliovirus* et *Adénovirus* | *Poliovirus* et *Adénovirus* | *Parvovirus* |
| Température | 20°C +/- 1°C* | 20°C +/- 1°C | Conformément aux recommandations du fabricant mais ≤ 60°C |
| Temps de contact<br>▪ Obligatoire<br>▪ Supplémentaire | 60 min*<br>5, 15 ou 30 min | 1 min ou 30 s<br>3 min | Conformément aux recommandations du fabricant mais ≤ 60 mn |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Substances interférentes<br>▪ Propreté<br>et / ou<br>▪ Saleté | Sérum albumine bovine 0,3 g / L<br>et / ou<br>Sérum albumine bovine 3 g / L + Erythrocytes de mouton 3 mL / L | PBS (solution tamponnée au phosphate) | Sérum albumine bovine 0,3 g / L<br>et / ou<br>Sérum albumine bovine 3 g / L + Erythrocytes de mouton 3 mL / L |

* Pour les instruments et surfaces, les essais réalisés avec des temps de contact inférieurs à 60 min, sans essai en 60 min, peuvent être toutefois retenus s'ils présentent les autres critères de relecture des CR de normes.
Les essais à des températures > à 20°C, quels que soient les degrés de température, sont acceptés et inclus dans ProdHyBase® pour les produits destinés à la désinfection des générateurs de dialyse rénale et pour les produits pour laveurs-désinfecteurs de DM.

– **Souches testées** :

  - *Poliovirus* type 1, souche LSc-2ab répondant aux prescriptions relatives à la production de vaccin oral contre la polio de l'OMS
    En attendant la publication de la norme NF EN 14476 / A2, ProdHyBase® accepte également les essais sur *Poliovirus* type 1, souche Chat (ATCC VR-1562).

  - *Adénovirus* type 5, souche adénoïd 75, ATCC VR-5

  - *Parvovirus bovin* souche Haden, ATCC VR-767
    Lignée cellulaire nécessaire à la culture du Parvovirus actuellement impossible à trouver. Par conséquent pour tous les produits (en particulier produits pour lave-instruments et produits pour dialyseurs) qui font l'objet d'essai avec des températures > à 20°C, une décision collégiale sera prise dossier par dossier.

– **Prise d'essai** pour un solide est de 1g ± 0,01g.

– **Dilution** du produit : en eau dure, sauf pour les produits prêts à l'emploi → eau bi-distillée ou eau p.p.i. (pour préparations injectables).
Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

– **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des micro-organismes est alors difficile et non fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 14476 20°C – 15 min – 5% (floculat).

– **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une doit être active et une non active. ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé.

- En **conditions de saleté :** présence d'un témoin viral avec de l'albumine bovine sérique sans érythrocytes.

- **Validation de la méthode** si :
  - **Suspension virale d'essai** a une $DICT_{50}$ ≥ $1.10^8$ /mL (lg $TCID_{50}$ ≥ 8) ou possède une concentration qui permet de déterminer une réduction de 4 lg du titre viral.

  - **Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité virucide** du désinfectant avec indication du mode opératoire de l'arrêt de l'action du produit : dilution à froid ou filtration, et du niveau de cytotoxicité.

  - **Contrôle de la sensibilité des virus** par des essais d'inactivation avec du formaldéhyde ou autre produit adéquat.
    La différence des titres viraux entre le témoin et le virus de référence dans l'essai d'inactivation est comprise entre - 0,5 et - 2,5 lg après 30 min et entre - 2 et - 4,5 lg après 60 min pour le *Poliovirus*.

  - **Cytotoxicité du produit** n'affecte pas la morphologie et la croissance cellulaire (pas d'obligation de notification dans le PV).

  - **Susceptibilité des cellules pour le virus d'essai :** Non affectée par la plus basse dilution non cytotoxique. (La cytotoxicité du produit n'affecte pas la susceptibilité des cellules pour le virus d'essai dans les dilutions des mélanges d'essai qui sont nécessaires pour démontrer une réduction de 4 lg du titre viral.) (pas d'obligation de notification dans le PV).

- **Tableaux des résultats et présentation graphique** de tous les résultats avec témoin au formaldéhyde ou autre produit adéquat. ProdHyBase® tolère pour l'instant les PV qui ne comportent que les tableaux des résultats ou que les graphiques, dès l'instant où il est possible de retrouver l'ensemble des résultats.

- **Réduction** des titres : Le produit est virucide si log (R) ≥ 4 lg.

***NF EN 14476 / T 72-185*** *(août 2005)*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai virucide quantitatif de suspension pour les antiseptiques et désinfectants chimiques utilisés en médecine humaine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).*
*Remplacée par la NF EN 14476 / NF T 72-185 / janvier 2007*
*Exclusion de ProdHyBase® en 2009.*

**NF EN 14348 / NF T 72-245** (juin 2005)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité mycobactéricide des désinfectants chimiques utilisés en médecine humaine y compris des désinfectants pour instruments. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

- Si un prEN est passé par le laboratoire, PHB accepte une attestation du laboratoire qui a fait le test affirmant qu'il n'y a pas de différence entre la méthode du projet de norme et la dernière version de la norme ; si et seulement si le projet de norme a été passé au maximum dans les 6 mois après que la parution de la dernière version de la norme.

- **Température** de l'essai :
  - obligatoire : 20°C ± 1°C.

- additionnelles : choisies à intervalle de 10°C (écart admis pour chaque température ± 1°C).
  Les essais à des températures > à 20°C, quels que soient les degrés de température, sont acceptés et inclus dans ProdHyBase® pour les produits destinés à la désinfection des générateurs de dialyse rénale et pour les produits pour laveurs-désinfecteurs de DM.

– **Temps de contact** de l'essai :
- obligatoire : 60 min ± 10 s.
- additionnels : 5 min, 15 min, 30 min ± 10 s.

Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 60 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.
ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 60 min.
Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

– **Souches testées** :
Activité mycobactéricide = *Mycobacterium avium* et *Mycobacterium terrae*
- *Mycobacterium avium* **ATCC 15769**
  DSM 44157
  CIP 105415
- *Mycobacterium terrae* **ATCC 15755**
  DSM 43227
  CIP 104321

Activité tuberculocide = *Mycobacterium terrae*
- *Mycobacterium terrae* **ATCC 15755**
  DSM 43227
  CIP 104321

– **Température d'incubation** des souches testées : 36-37°C ± 1°C

– **Substances interférentes** :
- Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
- Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L.

– **Dilution** du produit : en eau dure (sauf pour les produits prêts à l'emploi → eau distillée ou eau p.p.i.).
Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

– **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des micro-organismes est alors difficile et non fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 14348 20°C – 15 min – 5% (floculat).

– **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active et une concentration inactive. ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.

- **Neutralisant** validé (Cf. Grille générale).

- ProdHyBase tolère comme alternative à la méthode par dilution-neutralisation, la méthode par filtration, bien que la possibilité de recourir à une autre méthode que celle par neutralisation ne soit pas clairement précisée dans le protocole AFNOR.

- **Répétition recommandée de l'essai** (6 applications) avec la souche d'essai limitante (qui peut être *Mycobacterium terrae* dans certains cas ; pas de répétition obligatoire sur la souche non limitante) (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne). Par conséquent, un produit testé plusieurs fois à une même concentration peut être actif et inactif ; le produit sera considéré comme mycobactéricide à cette concentration, si la moyenne des résultats des essais montre une réduction supérieure à 4 lg.

- **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  N est compris entre 1,5 x $10^9$ UFC / mL et 5,0 x $10^9$ UFC /mL (9,17 ≤ lg N ≤ 9,70)
  $N_o$ est compris entre 1,5 x $10^8$ UFC / mL et 5,0 x $10^8$ UFC / mL (8,17 ≤ lg $N_0$ ≤ 8,70)
  $N_v$ est compris entre 3,0 x $10^2$ et 1,6 x $10^3$ UFC / mL
  $N_{vo}$ est compris entre 30 et 160
  A, B, C ≥ 0,5 x $N_{vo}$
  Contrôle des dénombrements moyens pondérés : quotient compris entre 5 minimum et 15 maximum.

    - $V_c$ = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai
    - $N_0$ = nombre de cellules par mL dans le mélange d'essai au début du temps de contact (temps 0) ($N_o$ = N / 10).
    - $N_v$ = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - $N_{v0}$ = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B ou C au début du temps de contact (temps 0) ($N_{vo}$ = $N_v$ / 10).
    - $N_a$ = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai à l'issue du temps de contact et avant l'étape de neutralisation.
    - A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact t.
    - B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant après 5 min.
    - C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.

- **Réduction** du nombre de colonies (ou cellules viables) : (R) ≥ 4 lg (lg R = 4).

## 1-3 NORMES D'APPLICATION SPECIFIQUES PAR APPLICATION

### Agro-alimentaire, industries, domaines domestiques et collectivités

***NF EN 1276 / NF T 72-173*** *mars 2010*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques.*
*Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans les domaines de l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité.*
*Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).*
*Remplacée par la NF EN 13727 / NF T 72-175 / juillet 2012*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 1er janvier 2014*

***NF EN 1276 / NF T 72-173*** *(octobre 1997)*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques utilisés dans les domaines de l'agro-alimentaire, l'industrie et dans les domaines domestiques et collectivités.*
*Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).*
*Remplacée par la NF EN 1276 / NF T 72-173 / mars 2010*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 1er janvier 2014*

**NF EN 1650 / NF T 72-203** (octobre 2008)
Antiseptiques et désinfectants chimiques utilisés dans les domaines de l'agro-alimentaire, l'industrie et dans les domaines domestiques et collectivités.
Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide
Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

- Norme acceptée pour les produits utilisés pour la désinfection des surfaces y compris des surfaces des dispositifs médicaux de classe I en établissement de santé en attendant la publication d'une nouvelle norme européenne phase 2 / étape 1 incluant la fongicidie en présence de substances interférentes.

- **Température** de l'essai :
  - obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - additionnelles : 4°C, 10°C ou 40°C ± 1°C.

- **Temps de contact** de l'essai :
  - obligatoire : 15 min ± 10 s.
  - additionnels : 1 min ± 5 s ; 5 min, 30 min ou 60 min ± 10 s.

  Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 15 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.
  ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 15 min.
  Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

- **Souches testées** :
  - Une activité fongicide doit être testée sur *Candida albicans* et sur *Aspergillus niger*. Une activité levuricide est testée sur *Candida albicans*.

| | | |
|---|---|---|
| - *Candida albicans* | **ATCC** | **10231** |
| | IP | 4872 |
| | DSM | 1386 |
| | CBS | 6431 |
| | NCTC | 3179 |
| - *Aspergillus niger* | **ATCC** | **16404** |
| | DSM | 1988 |
| | CBS | 733.88 |
| | CIP | 1431.83 |
| | NCTC | 2275 |
| | IMI | 149007 |

- **Température d'incubation** des souches testées : 30°C +/- 1°C.

- **Substances interférentes :**
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L.

- **Prise d'essai** : Pour les produits solides, l'échantillon doit peser au moins 1 g +/- 10 mg.

- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).

- **Aspect du produit et de ses dilutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat dans les solutions au cours du mode opératoire, car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 1650 / fongicidie / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (floculat).

- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active (≥ 4 lg) et une concentration inactive (< 4 lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.

- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.

  Si le neutralisant utilisé par le laboratoire n'est pas valide, un deuxième neutralisant devrait être essayé avant d'envisager un essai par filtration sur membrane. Toutefois, ProdHyBase® tolère les essais par filtration sur membrane même si le choix de l'utilisation de cette méthode n'est pas justifié sur le compte rendu.

- **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).

- **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - $V_C$ est compris entre :
    Pour la méthode par dilution-neutralisation :
    14 et 330 UFC/mL pour les levures (*Candida*)
    14 et 165 UFC/mL pour les moisissures (*Aspergillus*)

lg ou $\log_{10}$





Pour la méthode par filtration sur membrane (division et répartition de l'échantillon sur plusieurs membranes) :

14 et 165 UFC/mL pour les levures (*Candida*)

14 et 55 UFC/mL pour les moisissures (*Aspergillus*)

- N est compris entre 1,5 x $10^7$ et 5,0 x $10^7$ UFC/mL (7,17 ≤ lg N ≤ 7,70)
- $N_O$ est compris entre 1,5 x $10^6$ et 5,0 x $10^6$ UFC/mL (6,17 ≤ lg $N_O$ ≤ 6,70)
- $N_{VO}$ est compris entre 30 et 160 UFC/mL (3,0 x $10^1$ et 1,6 x $10^2$)
- $N_V$ est compris entre 3,0 x $10^2$ et 1,6 x $10^3$ UFC/mL
- A, B, C ≥ 0,5 $N_{VO}$
- Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.

  - $V_c$ = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
  - N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
  - $N_o$ = nombre de cellules par mL dans le mélange d'essai au début du temps de contact (temps 0) ($N_o$ = N / 10).
  - $N_v$ = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
  - $N_{vo}$ = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0) ($N_{vo}$ = $N_v$ / 10).
  - $N_a$ = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai à l'issue du temps de contact et avant l'étape de neutralisation ou de filtration sur membrane.
  - A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact.
  - B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant ou témoin de filtration après 5 min.
  - C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.

– **Réduction** du nombre de colonies (ou cellules viables) :

R= $N_0$ / $N_a$ ou lg (R) = lg ($N_0$) – lg ($N_a$)

lg (R) ≥ 4 lg (ou lg R ≥ 4).

***NF EN 1650 / NF T 72-203*** *(mai 1998)*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques utilisés dans les domaines de l'agro-alimentaire, l'industrie et dans les domaines domestiques et collectivités.*
*Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide*
*Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).*
*Remplacée par la NF EN 1650 / NF T 72-203 / octobre 2008*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 1er janvier 2014*

**NF EN 13697 / NF T 72-193** (novembre 2001)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de surface non-poreuse pour l'évaluation de l'activité bactéricide et/ou fongicide des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine de l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité. Méthode d'essai sans action mécanique et prescriptions (phase 2 / étape 2).

**1- Activité bactéricide**

– Norme acceptée pour les produits utilisés pour la désinfection des surfaces y compris des surfaces des dispositifs médicaux de classe I en établissement de santé en attendant la publication d'une nouvelle norme européenne phase 2 / étape 2.

– Les produits soumis à l'essai doivent présenter au moins l'activité bactéricide spécifiée dans l'EN 1040 ou EN 13727.

lg ou $log_{10}$

- **Température** de l'essai :
  - obligatoire : entre (18 ± 1)°C et (25 ± 1)°C.
  - additionnelles : (4 ± 1)°C, (10 ± 1)°C ou (40 ± 1)°C.
- **Temps de contact** de l'essai :
  - obligatoire : 5 min ± 10 s.
  - additionnels : 1 min, 15 min, 30 min et 60 min ± 10 s.

  Le produit doit être obligatoirement testé entre (18 ± 1) °C et (25 ± 1) °C, pendant un temps de contact de 5 min ± 10 s, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.

  ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé dans les conditions de température et de temps de contact obligatoires à condition que le temps de contact reste inférieur à 60 min.

  Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

- **Souches testées** :
  - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, CIP 103467, DSM 939, NCIB 10421
  - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, CIP 4.83, DSM 799, NCTC 10788, NCIB 9518
  - *Escherichia coli* ATCC 10536, CIP 54127, DSM 682, NCTC 10418, NCIMB 8879
  - *Enterococcus hirae* ATCC 10541, CIP 5855, DSM 20160, NCIMB 8191

- **Température d'incubation** des souches testées : 36-37°C ± 1°C

- **Substances interférentes** (au final lors de l'essai) :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L.
  - Lors de substances interférentes additionnelles, discuter au cas par cas en fonction de l'intérêt et faire figurer dans « Autre(s) référence(s) à une norme ».

- **Prise d'essai** pour les produits solides : au moins 1 g ± 10 mg.

- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).

- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionné et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire. Dans ce cas, l'indiquer dans le

champ en texte libre. Ex. NF EN 13697 / fongicidie / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (floculat).

- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active (≥ 4 lg) et une concentration inactive (< 4 lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.

- **Surface d'essai** : disques en acier inoxydable (conformes à la norme EN 10088).

- **Temps de séchage** de l'inoculum sur la surface d'essai ≤ 60 min.

- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.

- **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - N compris entre $1{,}5.10^8$ et $5.10^8$ UFC/mL.
  - Les dénombrements moyens des boîtes en double utilisées pour le calcul de N, $N_c$, $N_d$, NC, NT se situent entre 50 et 300. ProdHyBase® tolère des valeurs entre 15 et 300.
  - N-Nc ≤ 2 $\log_{10}$
  - N-NC ≤ 2 $\log_{10}$
  - NC-NT ≤ ± 0,3 $\log_{10}$
  - Nts < 100 UF/mL pour les concentrations actives. Pour les concentrations inactives, Nts peut ne pas être dénombrable.

    - N = logarithme du nombre d'UFC pour 0,05 mL de suspension d'essai.
    - $N_c$ = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai pour le témoin eau.
    - $N_d$ = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai pour l'essai avec les désinfectants.
    - NC = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai du témoin de neutralisation.
    - NT = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai de neutralisation.
    - Nts = nombre d'unités formant colonies restant sur la surface d'essai.

- **Réduction** logarithmique de la viabilité (valeur microbicide ME) : Valeur ME = $N_c$ - $N_d$
  ME ≥ 4

**2- Activité fongicide (levuricide)**

- Les produits soumis à l'essai doivent présenter au moins l'activité fongicide (levuricide) spécifiée dans l'EN 1275 ou EN 1650.

- **Température** de l'essai :
  - obligatoire : entre (18 ± 1)°C et (25 ± 1)°C.
  - additionnelles : (4 ± 1)°C, (10 ± 1)°C ou (40 ± 1)°C.

- **Temps de contact** de l'essai :
  - Obligatoire : 15 min ± 10 s.
  - additionnelles : 1 min, 5 min, 30 min et 60 min ± 10 s.

- **Souches testées** :
  ***Fongicidie***
  - *Candida albicans* ATCC 10231
    IP 4872
    DSM 1386
    CBS 6431

NCTC 3179

- *Aspergillus niger* ATCC 16404
  DSM 1387
  CBS 733.88
  IP 1431.83
  NCTC 2275
  CMI 149007

***Levuricidie***

- *Candida albicans* ATCC 10231
  IP 4872
  DSM 1386
  CBS 6431
  NCTC 3179

– **Température d'incubation** des souches testées : 30°C +/- 1°C.

– **Substances interférentes** (au final lors de l'essai) :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L.
  - Lors de substances interférentes additionnelles, discuter au cas par cas en fonction de l'intérêt et faire figurer dans « Autre(s) référence(s) à une norme ».

– **Prise d'essai** pour les produits solides : au moins 1 g ± 10 mg.

– **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).

– **Aspect du produit et de ses solutions** : Celui-ci doit être mentionné (absence ou présence de l'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire). En cas de présence de floculat, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 1650 / fongicidie / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (floculat).

– **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active (≥ 3 lg) et une concentration inactive (< 3 lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.

– **Surface d'essai** : disques en acier inoxydable (conformes à la norme EN 10088).

– **Temps de séchage** de l'inoculum sur la surface d'essai ≤ 60 min.

– **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.

– **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - N compris entre $1,5.10^7$ et $5.10^7$ UFC/mL.
  - Les dénombrements moyens des boîtes en double utilisées pour le calcul de N, $N_c$, $N_d$, NC, NT se situent entre 50 et 300. ProdHyBase® tolère des valeurs entre 15 et 300.
  - N-Nc ≤ 2 $\log_{10}$
  - N-NC ≤ 2 $\log_{10}$
  - NC-NT ≤ ± 0,3 $\log_{10}$

lg ou $\log_{10}$

- Nts < 100 UF/mL pour les concentrations actives. Pour les concentrations inactives, Nts peut ne pas être dénombrable.
    - N = logarithme du nombre d'UFC pour 0,05 mL de suspension d'essai.
    - $N_c$ = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai pour le témoin eau.
    - $N_d$ = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai pour l'essai avec les désinfectants.
    - NC = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai du témoin de neutralisation.
    - NT = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai de neutralisation.
    - Nts = nombre d'unités formant colonies restant sur la surface d'essai.

– **Réduction** logarithmique de la viabilité (valeur microbicide ME) : Valeur ME = $N_c$ - $N_d$
ME ≥ 3

***NF EN 13704 / NF T 72-233*** *(Avril 2002)*
*Cette norme concerne les désinfectants chimiques utilisés dans les domaines de l'agro-alimentaire, de l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité. Elle n'est pas adaptée au domaine médical.*

## Dispositifs médicaux par immersion

Les normes suivantes sont prises en compte pour :
- les produits pour traitement des dispositifs médicaux par immersion,
- les lingettes pour DM de classe II,
- les produits pour la désinfection par pulvérisation des surfaces destinées aux surfaces des DM de classe II,
- les détergents-désinfectants et désinfectants pour traitement des surfaces destinées aux surfaces des DM de classe II.

***NF EN 13727 / NF T 72-175*** *(Juillet 2004)*
*Désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide pour instruments utilisés en médecine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).*
*Remplacée par la NF EN 13727 / NF T 72-175 / juillet 2012*
*Exclusion de ProdHyBase® le 1er janvier 2015*

***Pr NF EN 13727 / T 72-175PR*** *(novembre 2009)*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide des désinfectants chimiques pour les instruments utilisés en médecine. Méthode d'essai et exigences (phase 2 / étape 1).*
*Remplacée par la NF EN 13727 / NF T 72-175 / juillet 2012*
*Exclusion de ProdHyBase® le 1er janvier 2015*

**NF EN 13624 / NF T 72-600** (avril 2004)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide des désinfectants chimiques d'instruments utilisés en médecine humaine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).
*Remplacée par la NF EN 13624 / NF T 72-600 / novembre 2013*
*Exclusion de ProdHyBase® le 1er janvier 2016*

- Essai applicable aux désinfectants chimiques destinés à la désinfection par immersion des instruments médicaux, dont les désinfectants chimiques d'instruments médicaux non couverts par la directive européenne CEE 93/42 sur les dispositifs médicaux.

- **Température** de l'essai :
  - obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - additionnelles : tous les 10°C (température à préciser dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes » pour chaque temps de contact 5, 15, 30 ou 60 min). Les essais à des températures > à 20°C, quels que soient les degrés de température, sont acceptés et inclus dans ProdHyBase® pour les produits destinés à la désinfection des générateurs de dialyse rénale et pour les produits pour laveurs-désinfecteurs de DM.

- **Temps de contact** de l'essai :
  - obligatoire : 60 min.
  - additionnels : 5 min, 15 min ou 30 min (à préciser lors de la sélection de la norme).

Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 60 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif dans d'autres conditions de température et de temps de contact.
ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 60 min.

Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

- **Souches testées** :
  ***Fongicidie*** *(test sur Candida albicans et Aspergillus niger)*
  ***Levuricidie*** *(test sur Candida albicans seul)*

| | | |
|---|---|---|
| ▪ *Candida albicans* | **ATCC** | **10231** |
| | CIP | 4872 |
| | DSM | 1386 |
| | CBS | 6431 |
| | NCTC | 3179 |
| ▪ *Aspergillus niger* | **ATCC** | **16404** |
| | DSM | 1988 |
| | CBS | 733.88 |
| | CIP | 1431.83 |
| | NCTC | 2275 |
| | IMI | 149007 |

- **Température d'incubation** des souches testées : 30°C +/- 1°C.

- **Substances interférentes** :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L.
    (à préciser lors de la sélection des normes).

- **Diluant** du produit : eau dure (sauf pour les produits prêts à l'emploi : eau distillée).
  *Pour les produits concentrés à dilution automatique* utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

  *Pour les produits prêts à l'emploi*, la méthode peut être modifiée pour diminuer la dilution du produit. Vérifier que cette méthode modifiée soit spécifiée.

- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 13624 / conditions de propreté … 20°C – 15 min – 2 % (floculat).

- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active (≥ 4 log) et une concentration inactive (< 4 log). ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé.

- **Neutralisation** : neutralisant validé (Cf. Grille générale) si méthode par dilution-neutralisation.

- **Pour chaque souche d'essai**, vérifier que :
  - N est compris entre $1{,}5 \times 10^7$ et $5{,}0 \times 10^7$ UFC/mL ($7{,}17 \leq \lg N \leq 7{,}70$)
  - $N_O$ est compris entre $1{,}5 \times 10^6$ et $5{,}0 \times 10^6$ UFC/mL ($6{,}17 \leq \lg N_O \leq 6{,}70$)
  - $N_{VO}$ est compris entre 45 et 180 UFC/mL ($4{,}5 \times 10^1$ et $1{,}8 \times 10^2$)
  - $N_V$ est compris entre $4{,}5 \times 10^2$ et $1{,}8 \times 10^3$ UFC/mL
  - A, B, C $\geq 0{,}5\ N_{VO}$
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum

lg ou $\log_{10}$

– **Réduction** du nombre de cellules viables : ≥ $10^4$ ou 4 lg.

**NF EN 14561 / NF T 72-602** (Mars 2007)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de porte-germe pour l'évaluation de l'activité bactéricide pour instruments utilisés en médecine humaine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

– **Température** de l'essai :
  - obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - additionnelles : au choix mais max. 60°C (écart admis pour chaque température ± 1°C).

– **Temps de contact** de l'essai :
  - obligatoire : 60 min ± 10 s.
  - additionnels : 5 min, 15 min ou 30 min ± 10 s.

  Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 60 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.
  ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 60 min à condition que le temps de contact reste inférieur à 60 min.
  Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

– **Souches testées** :

| | | |
|---|---|---|
| ▪ *Pseudomonas aeruginosa* | ATCC | 15442 |
| | CIP | 103467 |
| | DSM | 939 |
| | NCIMB | 10421 |
| ▪ *Staphylococcus aureus* | ATCC | 6538 |
| | CIP | 4.83 |
| | DSM | 799 |
| | NCTC | 10788 |
| | NCIMB | 9518 |
| ▪ *Enterococcus hirae* | ATCC | 10541 |
| | CIP | 58.55 |
| | DSM | 3320 |
| | NCIMB | 8192 |

– **Température d'incubation** des souches testées : 36-37°C ± 1°C

– **Substances interférentes** (au final lors de l'essai) :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L.
  - Lors de substances interférentes additionnelles, discuter au cas par cas en fonction de l'intérêt et à faire figurer dans « Autre(s) référence(s) à des tests normalisés ou labels ».

– **Prise d'essai** pour les produits solides au moins 1 g +/- 10 mg.

– **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).

lg ou $log_{10}$

Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

– **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 14561 / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (floculat).

– **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active (≥ 5 lg) et une concentration inactive (< 5 lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé.

– **Surfaces d'essai** : Porte-germes en verre (verre dépoli sur une face et de 15 mm x 60 mm x 1 mm).

– **Temps de séchage** de l'inoculum sur le porte-germes ≤ 60 min.

– **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.

– **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 5 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).

– **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
- $N_a$ est compris entre 140 et 3300 UFC/mL
- $V_C$ est compris entre : 14 et 330 UFC/mL
- N est compris entre $1,5 \times 10^9$ et $5,0 \times 10^9$ UFC/mL ($9,17 \leq \lg N \leq 9,70$)
- $N_w$ est compris entre $1,4 \times 10^7$ UFC / mL et $0,05 \times N$ [$7,15 \leq \lg N_w \leq (\lg N - 1,3)$]
- $N_{VO}$ est compris entre 30 et 160 UFC/mL ($3,0 \times 10^1$ et $1,6 \times 10^2$)
- $N_V$ est compris entre $3,0 \times 10^2$ et $1,6 \times 10^3$ UFC/mL
- A, B, C ≥ 0,5 $N_{VO}$
- Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.
- Si une au moins des valeurs de $V_C$ est dans la plage de 14 à 330 pour trois dilutions successives, l'essai n'est pas valable. (exigence en phase de test)

  - $V_c$ = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
  - N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
  - $N_v$ = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
  - $N_{vo}$ = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0).
  - $N_{w\ (\text{« témoin eau »})}$= nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le diluant du produit, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
  - $N_a$ = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le produit à la concentration testée, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
  - A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact.
  - B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant après 5 min.
  - C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.

– **Réduction** du nombre de colonies (ou cellules viables) :

$$R = N_w / N_a \text{ ou } \lg(R) = \lg(N_w) - \lg(N_a)$$

lg ou $\log_{10}$

lg (R) ≥ 5 lg (ou lg R ≥ 5).

**NF EN 14562 / NF T 72-206** (septembre 2006)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de porte-germe pour l'évaluation de l'activité fongicide pour instruments utilisés en médecine humaine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

– Cette norme peut être validée complètement (fongicidie) ou uniquement pour le niveau de levuricidie. PHB accepte une norme de fongicidie passée en 2 parties (2 dates ou 2 laboratoires différents) à condition qu'il s'agisse de la même version de la norme.

– **Température** de l'essai :
  - obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - additionnelles : au choix mais sans dépasser 60°C (écart admis pour chaque température ± 1°C).

– **Temps de contact** de l'essai :
  - obligatoire : 60 min ± 10 s.
  - additionnels : 5 min, 15 min ou 30 min ± 10 s.

  Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 60 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.
  ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 60 min à condition que le temps de contact reste inférieur à 60 min.

– **Souches testées** :

***Fongicidie***

| | | |
|---|---|---|
| ▪ *Candida albicans* | ATCC | 10231 |
| | CIP | 48.72 |
| | DSM | 1386 |
| | CBS | 6431 |
| ▪ *Aspergillus niger* | ATCC | 16404 |
| | CIP | 1431.83 |
| | DSM | 1988 |
| | CBS | 733.88 |
| | IMI | 149007 |

***Levuricidie***

| | | |
|---|---|---|
| ▪ *Candida albicans* | ATCC | 10231 |
| | CIP | 48.72 |
| | DSM | 1386 |
| | CBS | 6431 |

– **Température d'incubation** des souches testées : 30°C +/- 1°C.

– **Substances interférentes** (au final lors de l'essai) :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L.
  - Lors de substances interférentes additionnelles, discuter au cas par cas en fonction de l'intérêt et à faire figurer dans « Autre(s) référence(s) à des tests normalisés ou labels ».

- **Prise d'essai** pour les produits solides, l'échantillon doit peser au moins 1 g +/- 10 mg.

- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).
  Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 14562 / levuricidie / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (floculat).

- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active (≥ 4 lg) et une concentration inactive (< 4 lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.

- **Surfaces d'essai** : Porte-germes en verre (verre dépoli sur une face et de 15 mm x 60 mm x 1 mm).

- **Temps de séchage** de l'inoculum sur le porte-germes ≤ 60 min.

- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.

- **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).

- **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - $V_C$ est compris entre : 14 et 330 UFC/mL pour *Candida* et 14 et 165 UFC / mL pour *Aspergillus*
  - $N_a$ est compris entre 140 et 3300 UFC/mL pour *Candida* et 140 et 1650 UFC / mL pour *Aspergillus*
  - N est compris entre $1{,}5 \times 10^8$ et $5{,}0 \times 10^8$ UFC/mL ($8{,}17 \leq \lg N \leq 8{,}70$)
  - $N_w$ est compris entre $1{,}4 \times 10^6$ UFC / mL et $0{,}05 \times N$ [$6{,}15 \leq \lg N_w \leq (\lg N - 1{,}3)$]
  - $N_{VO}$ est compris entre 30 et 160 UFC/mL ($3{,}0 \times 10^1$ et $1{,}6 \times 10^2$)
  - $N_V$ est compris entre $3{,}0 \times 10^2$ et $1{,}6 \times 10^3$ UFC/mL
  - A, B, C ≥ $0{,}5\ N_{VO}$
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.
  - Si une au moins des valeurs de $V_C$ est dans la plage de 14 à 330 UFC / mL pour *Candida* et 14 et 165 UFC / mL pour *Aspergillus* pour trois dilutions successives, l'essai n'est pas valable. (exigence en phase de test)

    - $V_c$ = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
    - $N_v$ = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - $N_{vo}$ = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0).

- $N_w$ (« témoin eau »)= nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le diluant du produit, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
- $N_a$ = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le produit à la concentration testée, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
- A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact.
- B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant après 5 min.
- C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.

– **Réduction** du nombre de colonies (ou cellules viables) : R= $N_w$ / $N_a$ ou lg (R) = lg ($N_w$) – lg ($N_a$)
lg (R) ≥ 4 lg (ou lg R ≥ 4).

**NF EN 14563 / NF T 72-246** (février 2009)
Désinfectants et antiseptiques chimiques. Essai quantitatif de porte-germe pour l'évaluation de l'activité mycobactéricide ou tuberculocide des désinfectants chimiques utilisés pour instruments en médecine humaine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

– **Température** de l'essai :
  - Obligatoirement : 20°C ± 1°C.
  - Additionnelles : au choix mais sans dépasser 60°C (écart admis pour chaque température ± 1°C.

– **Temps de contact** de l'essai :
  - obligatoirement : 60 min ± 10 s.
  - Additionnelles : 5 min, 15 min ou 30 min ± 10 s.

  Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 60 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.
  ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 60 min à condition que le temps de contact reste inférieur à 60 min.

– **Souches testées** :
  Mycobactéricidie :
  - *Mycobacterium avium* ATCC 15769
    DSM 44157
    CIP 105415
  - *Mycobacterium terrae* ATCC 15755
    DSM 43227
    CIP 104321

  Tuberculocidie :
  - *Mycobacterium terrae* ATCC 15755
    DSM 43227
    CIP 104321

– **Température d'incubation** des souches testées : 36-37°C ± 1°C

– **Substances interférentes** (au final lors de l'essai) :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L.
  - Lors de substances interférentes additionnelles, discuter au cas par cas en fonction de l'intérêt et à faire figurer dans « Autre(s) référence(s) à une norme ».

- **Prise d'essai** : Pour les produits solides, l'échantillon doit peser au moins 1 g +/- 10 mg.

- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).
  Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 14563 / mycobactéricidie / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (floculat).

- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active (≥ 4 lg) et une concentration inactive (< 4 lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.

- **Surfaces d'essai** : Porte-germes en verre (verre dépoli sur une face et de 15 mm x 60 mm x 1 mm).

- **Temps de séchage** de l'inoculum sur le porte-germes ≤ 60 min.

- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.

- **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant (organisme le moins sensible) (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).

- **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - $V_C$ est compris entre : 14 et 330 UFC/mL
  - $N_a$ est compris entre 140 et 3300 UFC/mL
  - N est compris entre 1,5 x $10^9$ et 5,0 x $10^9$ UFC/mL (9,17 ≤ lg N ≤ 9,70)
  - $N_w$ est compris entre 1,4 x $10^6$ UFC / mL et 0,05 x N soit [6,15 ≤ lg $N_w$ ≤ (lg N – 1,3)]
  - $N_{VO}$ est compris entre 30 et 160 UFC/mL (3,0 x $10^1$ et 1,6 x $10^2$)
  - $N_V$ est compris entre 3,0 x $10^2$ et 1,6 x $10^3$ UFC/mL
  - A, B, C ≥ 0,5 $N_{VO}$
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.
  - Si une des valeurs de $V_C$ en double ou les deux dans au moins trois dilutions consécutives de $N_a$ (y compris $N_a^0$) se situe dans les limites de dénombrement entre 14 à 330 UFC / mL, la totalité de l'essai n'est pas valable. (exigence en phase de test).

    - $V_c$ = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
    - $N_v$ = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - $N_{vo}$ = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0).
    - $N_{w\ (\text{« témoin eau »})}$= nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le diluant du produit, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
    - $N_a$ = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le produit à la concentration testée, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.

lg ou $log_{10}$

- A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact.
- B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant après 5 min.
- C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.

– **Réduction** du nombre de cellules viables : R= $N_w$ / $N_a$ ou lg (R) = lg ($N_w$) – lg ($N_a$)
lg (R) ≥ 4 lg (ou lg R ≥ 4).

lg ou $log_{10}$

## Mains

***prEN 12054*** *(abrogée fin 2004)*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide pour produits pour le traitement hygiénique par frictions et le lavage hygiénique et chirurgical des mains. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).*
*Remplacée par la NF EN 13727 / NF T 72-175 / Juillet 2012.*
*Exclusion de ProdHyBase® le 1er janvier 2014.*

***NF EN 1499 / NF T 72-501*** *(Juin 1997) (EN 1499 : mars 1997)*
*Antiseptiques et désinfectants chimiques. Lavage hygiénique des mains. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).*
*Exclusion de ProdHyBase® en 2013 suite aux recommandations nationales concernant l'hygiène des mains.*

**NF EN 1500 / NF T 72-502** (Juin 2013) (EN 1500 : Avril 2013)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Traitement hygiénique des mains par frictions. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

La norme a été révisée dans le but de l'adapter à l'état de la science actuel, de corriger les erreurs et les ambiguïtés, d'harmoniser la structure et la terminologie par rapport aux autres essais du CEN/TC 216 existants ou en préparation et d'améliorer la lisibilité de la norme pour la rendre plus compréhensible. Les modifications techniques significatives suivantes ont été apportées depuis la dernière édition : neutralisation (5.5.1.2), le nombre de sujets (5.5.1.4), l'évaluation statistique (5.8). Les annexes ont été complètement révisées.
Les données obtenues à l'aide de la version précédente de l'EN 1500 peuvent toujours être utilisées si elles sont complétées par les données relatives à la neutralisation, les résultats supplémentaires obtenus pour les sujets supplémentaires et la nouvelle évaluation statistique de l'ensemble de données « mixtes » (anciennes et nouvelles). Il convient que les résultats supplémentaires soient de préférence obtenus dans le même laboratoire et avec des sujets n'ayant pas participé à l'étude précédente (« ancienne »). Si le neutralisant employé dans l'essai utilisant la version précédente n'a pas une activité neutralisante suffisante, il convient de réaliser un nouvel essai complet. Les modifications apportées au mode opératoire de l'Annexe A sont considérées comme n'ayant pas d'influence, ou une influence négligeable, sur les résultats.

- Acceptée pour les produits ayant satisfait au préalable à une norme de bactéricidie de phase 1 ou de phase 2 étape 1, soit NF EN 1040 : 2006, soit EN 13727 (Juillet 2012).

- Le rapport d'essai doit comporter au moins les informations suivantes :

➢ Référence de la norme + date
➢ Identification du laboratoire d'essai : nom, adresse, nom et signature du responsable de l'essai, date de validation finale
➢ Identification de l'échantillon :
    - nom du produit
    - numéro et date d'expiration (le cas échéant) du lot
    - nom du fabricant
    - date de livraison
    - conditions de stockage
    - diluant du produit recommandé par le fabricant
    - substance(s) active(s) et sa/leur concentration (facultatif)
    - aspect du produit

- Conditions expérimentales :
  - **Dates de l'essai** :
    Vérifier que tous les essais sont effectués par tous les sujets, le même jour et dans des conditions environnementales comparables. Vérifier la randomisation en 2 groupes et le croisement des groupes.
    Pour les essais réalisés simultanément sur plusieurs produits, vérifier que l'essai est organisé en carré latin avec autant de groupes de sujets et autant de séries d'essai qu'il y a de produits : à la fin de l'essai chaque sujet doit avoir utilisé chaque produit + le produit de référence.,
  - **Nombre de sujets inclus** : 18 à 22 sujets de plus de 18 ans sains, Il doit être spécifié qu'ils ont les mains avec peau saine et sans coupure, ni érosion cutanée.
  - **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure ou eau distillée ou eau p.p.i
  - **T° d'essai** : 20°C ± 1°C
  - **Souche** : *Escherichia coli* K 12 : NCTC 10538
    NCIMB 10083
    CIP 54.117
  - **T° d'incubation** : 36-37°C ± 1°C.
  - **Concentrations d'essai** du produit : pur
  - **Aspect des dilutions** du produit ; noter en cas de floculation
  - **Temps de contact** : 30 s ≤ t ≤ 60 s ± 5 s
  - **Mode opératoire** :

La norme détaille la procédure suivante, qui peut être remplacée par la mention « selon la procédure de la NFEN 1500 »

-***Préalable***
*Nettoyer les mains pendant 1 min avec 5 mL de savon doux.*
*Rincer à l'eau courante.*
*Sécher soigneusement avec une serviette en papier propre pendant au moins 30 s.*

-***Contamination des mains***
*Tous les sujets plongent les mains jusqu'au milieu des métacarpiens dans le liquide de contamination pendant 5 s, les doigts écartés. Le bain est commun à tous les utilisateurs pendant 3H.*
*Laisser égoutter 30 s maximum.*
*Laisser sécher à l'air 3 min, position horizontale, doigts écartés avec mouvements de rotation afin d'éviter la formation de gouttelettes.*

-***Prélèvement initial***
*Frotter les extrémités digitales, pouces compris, pendant 1 min dans une boîte de Pétri contenant 10 ml de liquide de prélèvement (TSB) pour les prélèvements initiaux, TSB et neutralisant pour les autres*
*Une boîte différente pour chaque main.*

***-Traitement hygiénique des mains par friction***

- Procédure de référence (RP) : 2 frictions de 3 mL – 30 s par friction (soit 60 s ± 5 s.) avec du 2-propanol à 60 % puis rinçage des doigts pendant 5 s.

- Procédure réalisée selon les indications du fabricant (PP) :
  Dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes », noter le nombre d'applications suivi du volume par application et de la durée de friction par application. Ex. « 2 applications de 1 mL – 30 s par application » *puis rinçage des doigts pendant 5 secondes (mention facultative)*.

- ***Prélèvement final***
*Frotter les extrémités digitales, pouces compris, pendant 1 min dans une boîte de Pétri.*
*Une boîte différente pour chaque main.*

« NOTE Compte tenu du mode opératoire normalisé de traitement hygiénique des mains par frictions (Annexe A), un temps de contact inférieur à 30 s ne peut pas être réalisé et vérifié. »

- **Neutralisation** : neutralisant validé à préciser. Seuls les neutralisants utilisant du TSB sont autorisés.
  Tous les détails relatifs à l'essai de validation du neutralisant (5.7.3) doivent être fournis (y compris les essais d'absence de toxicité) ;
  Le produit de référence est neutralisé par dilution uniquement.

➢ **Résultats d'essai** : tous les éléments ci-dessous doivent être présents

- Dénombrement des cellules viables de la suspension de contamination (N) et technique de dénombrement

- Description exacte de la réalisation de PP (5.5.3.3.3) : volume, temps de contact, fréquence d'application ;

- Disponibilité de tous les résultats (tableaux des dénombrements) provenant d'au minimum 18 sujets. Tous les ensembles complets de résultats doivent servir dans une évaluation ultérieure. En cas d'essais groupés vérifier que l'essai en carré latin a été respecté.

- Pour RP et PP (Tableaux E.1 et E.2), les listes des résultats expérimentaux contenant les nombres de colonies observées sur les boîtes en tenant compte de la dilution respective du liquide de prélèvement avec les mentions signalant quels dénombrements sont utilisés pour les calculs ultérieurs ; Chaque tableau doit reprendre la date, l'organisme d'essai, le produit testé, le mode opératoire et la valeur de N.
  □ Les moyennes globales des logarithmes des valeurs initiales de RP et PP doivent être au moins de 5,00.
  □ Pour RP, il ne doit pas être observé plus de trois réductions logarithmiques inférieures à 3,00.
  □ La différence absolue des différences moyennes entre les réductions logarithmiques de RP et PP du groupe RP→PP et du groupe PP→RP doit être inférieure à 2,00.

- Liste des valeurs logarithmiques traitées, c'est-à-dire les logarithmes décimaux (Tableau E.3) des moyennes gauche-droite et, le cas échéant, des dénombrements de cellules viables pondérés par ml de liquide de prélèvement, déduit des dénombrements de colonies marquées/soulignées. Cette liste contient les logarithmes des valeurs initiales et finales individuelles, ainsi que la réduction logarithmique pour chaque sujet de l'essai séparément pour RP et PP, les moyennes globales, les écarts-types et la séquence chronologique des modes opératoires de traitement hygiénique des mains par frictions [PP avant RP (PP->RP) ou inversement (RP->PP)] ;

- Liste démontrant le calcul des limites de confiance à 97,25 % unilatérales supérieures de Hodges-Lehmann (Tableau E.4a)) et un tableau montrant le tri et le calcul des limites de confiance supérieures Hodges-Lehmann (Tableau E.4b)) ;

- **Vérifier que** :
  - $V_c$ est compris entre 14 et 330 UFC/mL (Toutes les données expérimentales sont consignées sous la forme de valeurs VC. Une valeur VC est le nombre d'UFC dénombrées par échantillon de 1,0 ml.)
  - N est compris entre $1{,}5 \times 10^8$ et $5 \times 10^8$ UFC/mL ($8{,}17 \leq \lg N \leq 8{,}70$) (*N* est le nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai/de contamination)
  - Nv est compris entre $3 \times 10^2$ et $1{,}6 \times 10^3$ UFC/mL (*N*V est le nombre de cellules par ml dans la suspension de validation)
  - $N_{V0}$ est compris entre 30 et 160 UFC/mL (*N*vo est le nombre de cellules par ml dans les mélanges B et C au début du temps de contact)
  - $N_{VB}$ est compris entre $3 \times 10^4$ et $1{,}6 \times 10^5$ UFC/mL (NvB = 1 000 c/n)
  - $B \geq 0{,}0005\ N_{VB}$ (Témoin du neutralisant)
  - $C \geq 0{,}5\ N_{V0}$ (Validation de la méthode)

lg ou $\log_{10}$

- Pour les dénombrements moyens pondérés : le quotient est compris entre 5 et 15.

➢ remarques particulières ;

➢ conclusion ;

➢ lieu, date et signature identifiée.

– **Statistiques**
La vérification de non-infériorité doit être appliquée aux réductions logarithmiques de chaque réduction moyenne individuelle du nombre de micro-organismes tests obtenue avec le produit comparativement à celle de la référence.

***Contrairement à la version précédente de la norme, un test est requis***

- La méthode à utiliser peut être manuelle ou informatisée : Le test utilisé est le test de Hodges-Lehmann à 97,5 %.
- Un tableau des différences moyennes par paire est composé. Les différences des réductions logarithmiques individuelles de RP – PP du Tableau E.4a) sont triées dans la deuxième colonne et dans l’en-tête, dans l’ordre décroissant :
- La médiane est comprise entre la 10ème et la 11ème valeur : [-0,14 + (-0,14)]/2 = -0,14. Les petits exposants représentent les rangs.
- Les différences moyennes par paire qui ne dépassent pas la valeur médiane (ici : -0,14) sont calculées et triées par ordre décroissant.
- Avec le tableau de Wilcoxon, ce tableau permet de calculer la limite de confiance supérieure unilatérale.
- Il faut ensuite comparer la limite de confiance supérieure des différences obtenue à la marge d’infériorité. Si la limite de confiance supérieure est supérieure ou égale à la marge d’infériorité, fixée à 0,6 unités logarithmique, l’hypothèse zéro (H0) de l’infériorité ne peut pas être rejetée. Sinon, H0 est rejetée et le produit soumis à l'essai est supposé non inférieur.

*D’après le Tableau E.5 des valeurs critiques de l’essai de Wilcoxon des comparaisons d'observations appariées avec classement par rangs, à l’entrée n=20, pour un niveau de signification unilatéral p = 0,025, on obtient la valeur critique 52.* ***Par conséquent, c = 52 + 1 = 53****. Les différences par paire sont triées dans l’ordre décroissant.*
***La 53ème valeur est 0,11****. La limite de confiance unilatérale supérieure de Hodges-Lehmann à 97,5 % pour la différence de réduction logarithmique entre RP et PP est donc de 0,11 – valeur inférieure à la marge d’infériorité convenue de 0,6. Par conséquent, l’hypothèse de l’infériorité de PP est rejetée, et il peut être conclu que la préparation soumise à l'essai PP n’est pas inférieure à RP.*

**Tableau E.3 — Liste des valeurs logarithmiques calculées (moyennes des mains gauche et droite) et des réductions logarithmiques**

| Sujets | Séquence chronologique (5.5.1.5, 5.6.2.6) | Traitement de mains par frictions de référence (RP) (2-Propanol à 60 % v/v) | | | Traitement de mains par frictions avec le produit soumis à l'essai (PP) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | lg valeurs initiales | Logarithmes des valeurs finales | lg R | Logarithmes des valeurs initiales | Logarithmes des valeurs finales | lg R |
| 1 | RP->PP | 7,11 | 1,93 | 5,18 | 6,90 | 1,15 | 5,75 |
| 2 | PP->RP | 6,47 | 2,92 | 3,55 | 6,45 | 1,24 | 5,22 |
| 3 | RP->PP | 6,73 | 3,63 | 3,10 | 6,33 | 2,25 | 4,08 |
| 4 | PP->RP | 6,54 | 2,03 | 4,51 | 6,99 | 1,77 | 5,22 |
| 5 | PP->RP | 7,00 | 2,19 | 4,81 | 7,10 | 2,15 | 4,95 |
| 6 | PP->RP | 6,92 | 1,69 | 5,23 | 7,12 | 2,13 | 5,00 |
| 7 | RP->PP | 6,64 | 2,01 | 4,63 | 6,25 | 2,22 | 4,03 |
| 8 | RP->PP | 6,42 | 2,93 | 3,49 | 6,59 | 3,08 | 3,51 |
| 9 | PP->RP | 7,54 | 2,65 | 4,89 | 7,21 | 2,17 | 5,04 |
| 10 | RP->PP | 6,57 | 1,66 | 4,91 | 6,61 | 1,93 | 4,68 |
| 11 | PP->RP | 5,94 | 2,18 | 3,76 | 5,41 | 1,64 | 3,77 |
| 12 | PP->RP | 7,12 | 3,48 | 3,64 | 6,85 | 2,86 | 3,99 |
| 13 | PP->RP | 6,67 | 1,30 | 5,37 | 6,76 | 1,66 | 5,09 |
| 14 | PP->RP | 7,05 | 3,52 | 3,53 | 6,18 | 3,96 | 2,22 |
| 15 | PP->RP | 7,01 | 4,04 | 2,97 | 6,97 | 3,50 | 3,47 |
| 16 | RP->PP | 6,92 | 2,49 | 4,43 | 6,80 | 2,23 | 4,57 |
| 17 | RP->PP | 6,83 | 2,58 | 4,25 | 7,09 | 2,66 | 4,43 |
| 18 | RP->PP | 6,23 | 2,29 | 3,93 | 7,03 | 3,62 | 3,41 |
| 19 | RP->PP | 6,93 | 1,72 | 5,21 | 6,99 | 1,24 | 5,75 |
| 20 | RP->PP | 6,93 | 3,00 | 3,94 | 7,54 | 3,56 | 3,98 |
| X<br>s<br>NN | Global | 6,78<br>0,36<br>20 | 2,51<br>0,75<br>20 | 4,27<br>0,75<br>20 | 6,76<br>0,47<br>20 | 2,35<br>0,84<br>20 | 4,41<br>0,89<br>20 |
| X<br>s<br>NN | RP->PP | 6,73<br>0,27<br>10 | 2,42<br>0,63<br>10 | 4,31<br>0,70<br>10 | 6,81<br>0,38<br>10 | 2,39<br>0,85<br>10 | 4,42<br>0,81<br>10 |
| X<br>s<br>NN | PP->RP | 6,83<br>0,44<br>10 | 2,60<br>0,88<br>10 | 4,23<br>0,83<br>10 | 6,70<br>0,56<br>10 | 2,31<br>0,87<br>10 | 4,40<br>1,00<br>10 |

lg R = Réduction du logarithme décimal — X = Moyenne
Séquence RP->PP : première RP, deuxième PP — s = Écart-type
Séquence PP->RP : première PP, deuxième RP — NN = Nombre de valeurs (= sujets)

Différence des moyennes des réductions logarithmiques (RP->PP) : 4,31 – 4,42 = -0,11
Différence des moyennes des réductions logarithmiques (PP->RP) : 4,23 – 4,40 = -0,17
Différence absolue des différences : Abs [(-0,11) – (-0,17)] = 0,06

**NF EN 1500 / NF T 72-502** (septembre 1997) (EN 1500 : juillet 1997)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Traitement hygiénique des mains par frictions. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).
*Remplacée par la NF EN 1500 / NF T 72-502 / Juin 2013.*
*Exclusion de ProdHyBase® le 1er janvier 2015.*

– Acceptée pour les produits ayant satisfait au préalable à une norme de bactéricidie de phase 1 ou de phase 2 étape 1, soit NF EN 1040 : 2006, NF EN 1040 : 1997 (pour les produits commercialisés avant fin avril 2006), prEN 12054 (quelle que soit la date de commercialisation du produit), prEN 13727* ou NF T 72-170 / 72-171 spectre 4.

lg ou $\log_{10}$

* En attendant la publication d'une norme de phase 2 étape 1, les essais de norme EN 1499 effectués sur des produits conformes uniquement à un prEN 13727 (sans autre essai de bactéricidie de phase 1 ou de phase 2 étape 1 sus nommés) seront acceptés quelque soit la date du projet prEN 13727 utilisé. Toutefois, seuls les résultats des essais réalisés selon des protocoles de prEN 13727 de 2009 et suivants seront affichés dans ProdHyBase®.

- **Temps de chaque friction** : 30 s ou 60 s (à préciser lors de la sélection des normes).

- **Mode opératoire de référence** : 2 frictions de 3 mL – 30 s par friction avec du 2-Propanol à 60 % puis rinçage des doigts pendant 5 s.

- **Procédure réalisée selon les indications du fabricant** concernant : le volume de produit, le nombre et la durée des applications.
  Volume et fréquence à spécifier dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes ». Noter le nombre d'applications suivi du volume par application et de la durée de friction par application. Ex. « 2 applications de 1 mL – 30 s par application ».

- **Nombre de sujets inclus** : 12 à 15.

- **Tous les essais** sont effectués sur tous les sujets et le même jour. (Attention ! discussion possible compte tenu de l'incohérence dans le protocole entre le plan d'expérimentation 5.2. et l'annexe C tableaux C.1 et C.2).

- **Disponibilité de tous les résultats** (tableaux des dénombrements) provenant d'au minimum 12 sujets et résultats des calculs logarithmiques.

- **Souches testées** :
  - *Escherichia coli* K 12 — **NCTC 10538**
    NCIMB 10083
    CIP 54117

- **Pour chaque procédure R et P,** la moyenne globale des valeurs initiales exprimées en lg doit être supérieure ou égale à 5,00 et il ne doit pas être observé plus de trois facteurs de réduction logarithmique individuels inférieurs à 3,00.

- **Réduction moyenne du nombre de micro-organismes tests** obtenue avec le produit : non inférieure de façon statistiquement significative à celle obtenue après un traitement hygiénique des mains par friction de référence avec du 2-Propanol à 60 %.
  Lorsque le facteur de réduction logarithmique du produit testé est ≥ à celle du produit de référence, la comparaison statistique des valeurs obtenues (test de Wilcoxon) n'est pas nécessaire.

- **Neutralisation** : Utilisation d'un neutralisant validé (Cf. Grille générale).

*Remplacée par **NF EN 1500 / NF T 72-502 /** Septembre 2013.*
*Exclusion au 1er janvier 2015.*

**NF EN 12791 / NF T 72-503** (décembre 2005)
Antiseptiques et désinfectants chimiques. Désinfection chirurgicale des mains. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

- Acceptée pour les produits ayant satisfait au préalable à une norme de bactéricidie de phase 1 ou de phase 2 étape 1, soit NF EN 1040 : 2006, NF EN 1040 : 1997 (pour les produits commercialisés avant fin avril 2006), prEN 12054 (quelle que soit la date de commercialisation du produit), prEN 13727 : 2009 ou NF T 72-170 / 72-171 spectre 4.

lg ou $\log_{10}$

- **Lavage préalable des mains** avec un savon doux ou savon codex (au terme de la pharmacopée).

- **Mode opératoire de référence** : frictions de 3 mL avec du 1-Propanol à 60 % pendant 3 min.

- **Procédure réalisée selon les indications du fabricant** concernant :
  - *Pour la désinfection chirurgicale des mains par friction* :
    Le volume de produit, la durée totale des applications, le nombre de ces applications (à spécifier dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes »).

  Noter le nombre d'applications suivi du volume par application et de la durée de friction par application. Ex. « 2 applications de 1 mL – 30 s par application ».

- **Durée maximale d'application** : 5 min quelque soit la procédure.

- **Nombre de sujets inclus** : 20.

- **Utilisation de gants stériles** à usage chirurgical, en latex, non poudrés et sans agent antimicrobien (ou « selon le protocole de la norme »).

- **Disponibilité de tous les résultats** (tableaux des dénombrements) provenant d'au minimum 18 sujets et des résultats des calculs logarithmiques.

- **Essais réalisés en deux temps** : deux dates à 7 jours minimum d'intervalle pour permettre la reconstitution de la flore bactérienne avant inversion des deux groupes de sujets (mêmes dates sur les 2 tableaux de résultats). Les essais réalisés sur plus de deux jours sont acceptés si les dates sont les mêmes pour le mode opératoire de référence et pour le produit testé (donc mêmes dates sur les 2 tableaux de résultats) et qu'elles sont à au moins 7 jours d'intervalle. Les PV, sur lesquels ne figurent pas les 2 dates, sont tolérés, si et seulement si ces PV indiquent très clairement le plan d'expérimentation comprenant la description des deux temps avec changement de rôle entre les deux groupes de volontaires après un délai d'au moins une semaine entre les deux temps pour permettre la reconstitution de la flore normale de la peau.

- **Neutralisation** : Utilisation d'un neutralisant validé (Cf. Grille générale).

- **Toutes les moyennes des valeurs initiales logarithmiques** (c'est à dire pour les effets immédiats et à 3 heures des modes opératoires de référence et d'essai) doivent être au moins égales à 3,5.

- **Réduction** :
  - **Effet immédiat** : Réduction moyenne du nombre de micro-organismes tests obtenue avec le produit non inférieure de façon statistiquement significative à celle obtenue après une désinfection chirurgicale des mains de référence avec du 1-Propanol à 60 %. Pour l'effet immédiat, p = 0,1 (essai unilatéral) et pour l'effet au bout de 3 h, p = 0,01 (essai bilatéral).

  - **Effet prolongé** : Si le facteur moyen de réduction logarithmique obtenu pour l'effet après 3 h avec le produit testé est significativement supérieur, l'effet est considéré comme prolongé : p = 0,01 (essai bilatéral). Si l'effet est prolongé, préciser dans le champ en texte libre après la durée d'application : « avec effet prolongé ».

***prEN 12791***

lg ou $\log_{10}$

*Antiseptiques et désinfectants chimiques. Désinfection chirurgicale des mains. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).*
*Remplacé par la NF EN 12791 / NF T 72-503 / Décembre 2005*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 1er janvier 2008.*

## Surfaces

**NF T 72-281** (Mai 2009) En cours d'enregistrement dans ProdHyBase®
Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne. Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide et sporicide des désinfectants chimiques utilisés dans les secteurs hospitaliers, médical, pharmaceutique, et cosmétique, agricole, industriel et agroalimentaire.

- **Température** de l'essai :
  - Obligatoire : 20°C ± 2°C.
  - Additionnelles : Toute température en fonction de l'utilisation prévue du procédé.

La température avant et après diffusion doit être indiquée.

- **Temps de contact** de l'essai :
  - Obligatoire : Variable en fonction des indications du fabricant.
  - Additionnels : Des durées de contact prolongées peuvent être réalisées.

Attention : Possibilité de ne pas obtenir les contrôles de survie de certains germes. Dans ces conditions, il ne sera pas possible de de déterminer les taux de réductions logarithmiques > 3 log, 4 log ou 5 log exigés.

- **Humidité** :
  - Obligatoire : 50% à 70% H.R. (humidité relative), uniquement dans les secteurs où ces taux d'humidité sont rencontrés.
  - Additionnelles : Tous taux d'humidité en fonction de l'utilisation prévue du procédé.

L'hygrométrie relative avant et après diffusion doit être indiquée.

- **Volume du local** :
  - Obligatoire : 30 $m^3$ à 150 $m^3$.
  - Additionnels : Tout volume en fonction de l'utilisation prévue du procédé.

Le volume et les dimensions (hauteur, largeur, profondeur) du local doivent être indiqués.

- **Support** :
  - Obligatoire : disque en acier inox 1.4301 (NF EN 10088-1) de 2 cm à 4 cm de diamètre. Neuf à chaque test.
  - Additionnel : tout support non poreux ou un verre de montre, de 2 à 4 cm pouvant contenir au moins 50 µL d'inoculum.

Exclusion : support rugueux, anfractueux, fibreux comme le bois.

Vérifier si :
- La nature du support est spécifiée.
- La procédure de contamination des supports est conforme au protocole :
  - 50 µL de suspension par boîte
  - 45 min de séchage (Si le temps de séchage est > 45 min, les supports ne peuvent pas servir aux essais).

- Le nombre d'exemplaires de chaque support par souche :
  - trois pour l'essai
  - deux pour les témoins.

- Le nettoyage et la stérilisation doivent être précisés dans le rapport pour les supports additionnels :
  - Nettoyage : DECON ® - 60 min / « Stérilisation » : isopropanol 70% - 15 min

- **Souches testées** :

lg ou $log_{10}$

- <u>Bactéricidie</u>
  - *Pseudomonas aeruginosa* **ATCC 15442** CIP 103-467
  - *Staphylococcus aureus* souche Oxford **ATCC 6538** CIP 4.83
  - *Enterococcus hirae* **ATCC 10541** CIP 5855
  - *Escherichia coli* **ATCC 10536** CIP 54127
- <u>Sporicidie</u>
  - *Bacillus subtilis* spores **ATCC 6633** CIP 52 62
- <u>Fongicidie</u>
  - *Candida albicans* **ATCC 10231** IP 4872
  - *Aspergillus niger* **ATCC 16404** IP 1431-83
- <u>Levuricidie</u>
  - *Candida albicans* **ATCC 10231** IP 4872
- <u>Tuberculocidie</u>
  - *Mycobacterium terrae* **ATCC 5755**

– **Dilution** du produit : eau distillée ou eau ppi.

– **Neutralisation** : La nature des neutralisants, des membranes filtrantes et éventuellement du vibreur ultrasons (fréquence, puissance) doivent être indiquées dans le rapport.

– **Témoins** : Présence de témoins de supports non exposés au désinfectant ; ces témoins de survie des germes sur les supports doivent être effectués en même temps que l'essai proprement dit.

– **Essai préliminaire** (3 tests) de validation de l'absence d'effet résiduel :
  - En gélose
  - Sur membrane filtrante
  - Dû au support dans le milieu gélosé

- **<u>Dans le cas des procédés automatiques</u>** *(procédé mettant en œuvre un gaz ou un dispersat à partir d'une source émettrice à distance des surfaces du local à traiter et hors présence humaine)* :

✓ Orientation et emplacement des supports :
- Obligatoires : Position verticale, inoculum orienté vers la direction opposée à l'appareil
  Distance appareil-supports conforme à l'annexe B
- Additionnelles : Toute possibilité en fonction de l'utilisation prévue du procédé.

✓ Quantité de produit utilisée : temps de diffusion du produit, quantité totale utilisée (dose en g ou mL/m 3) et débit mesuré de l'appareil.

✓ Description des revêtements du local.

✓ Précision dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes » :
- Couple appareil-produit
- Temps d'exposition au procédé après émission (obligatoirement < 12 heures).

✓ Présence d'un schéma d'essai à l'échelle indiquant précisément les contours du local, la position de l'appareil et des portes-germes pour chacune des manipulations.

- **<u>Dans le cas des dispersats dirigés</u>** :
  - **Dispersat sans pression** *(petits pulvérisateurs type « spray »)* :
  - ✓ Orientation et emplacement des 3 supports (support concave exclu) :
    - Obligatoires : Position horizontale, inoculum orienté vers le haut ;
      Distance appareil-supports au moins 20 cm.

  ✓ Si présence de ruissellement indiqué dans le rapport, exclure les résultats.

  - Énumération de tous les paramètres pouvant influencer l'activité du procédé : position des supports, temps d'émission du dispersat, temps d'action et masse moyenne du dispersat et vitesse d'évaporation.

  - Précision dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes » :
    - Temps d'action du produit ;
    - Type d'appareil de dispersion ;
    - Dose pulvérisée par support.

  - **Dispersat avec pression** *(appareil plus volumineux à lance et compresseur ou « bombes aérosols » avec un limite de pression de 10 bars)* :
  - Orientation et emplacement des 3 supports :
    - Obligatoires : Position verticale, inoculum orienté vers le manipulateur ;
      Distance appareil-supports au moins 50 cm.

  - Distance manipulateur-support égale à celle préconisée en pratique.

  ✓ Si présence de ruissellement indiqué dans le rapport, exclure les résultats.

  - Énumération de tous les paramètres pouvant influencer l'activité du procédé : position des supports, temps d'émission du dispersat, temps d'action et masse du dispersat et vitesse d'évaporation.

  - Précision dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes » :

- Temps d'action du produit ;
- Type d'appareil de dispersion ;
- Dose pulvérisée par support.

– **Pour chaque souche d'essai,** vérifier que :
  - Sur gélose : nb de colonies par boîtes entre 14 et 330 pour bactéries et levures.
    14 et 165 pour *A. niger.*
  - Sur membranes : nb de colonies par boîtes entre 14 et 165 pour bactéries et levures.
    14 et 55 pour *A. niger.*
  - N compris entre $10^8$ et $5.10^9$ ufc/mL pour les souches bactériennes
    N > $10^8$ ufc/mL pour *Candida albicans*
    N > $5.10^7$ ufc/mL pour *Aspergillus niger*
    N > $2.10^7$ ufc/mL pour la souche sporulée de *Bacillus subtilis*
  - T ≥ $10^6$ germes/support quelle que soit la souche
  - n1 > 0,5 N1
    n3 > 0,5 N1
    n2 > 0,5 N2

    - N = nombre de germes/mL dans la suspension d'essai.
    - T = nombre de germes/mL sur les supports témoins.
    - n1, n2, n3 = nombre de colonies obtenues lors de la recherche du pouvoir inhibiteur respectivement en gélose, sur membrane filtrante et dû au support dans le milieu gélosé dans l'essai préliminaire avec la solution de recueil des résidus de désinfectant.
    - N1, N2 = nombre de colonies obtenues dans les mêmes conditions que n1, n2 respectivement mais sans contact avec la solution de recueil des résidus de désinfectant.

– **Réduction** minimum pour revendiquer une activité désinfectant <u>si supports lisses</u>
  - Activité bactéricide ≥ $10^5$ ou 5 log
  - Activité sporicide ≥ $10^3$ ou 3 log
  - Activité fongicide ≥ $10^4$ ou 4 log
  - Activité levuricide ≥ $10^4$ ou 4 log
  - Activité tuberculocide ≥ $10^4$ ou 4 log

– **Préciser dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes »** :
  - Couple appareil-produit.
  - L'activité du produit (bactéricidie, fongicidie, sporicidie).
  - Le poids (ou volume) par $m^3$
  - Le temps de diffusion par $m^3$
  - Le temps de contact.

***NF T 72-281*** *(septembre 1986)*
*Désinfectants. Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne. Détermination de l'activité bactéricide, fongicide et sporicide.*
*Exclusion de ProdHyBase® depuis le 30 avril 2009.*

lg ou $log_{10}$